KOLLOID ZEITSCHRIFT

ZEITSCHRIFT FÜR REINE UND ANGEWANDTE KOLLOIDWISSENSCHAFT
EINSCHLIESSLICH DER MAKROMOLEKULAREN SUBSTANZEN

Zur Zeit vereinigt mit den Kolloid-Beiheften. Organ für die Veröffentlichungen der Kolloid-Gesellschaft

Herausgegeben von

F. HORST MÜLLER Marburg/Lahn — **JOACHIM STAUFF** Frankfurt/Main

Referatenteil: **E. ÜHLEIN**, Frankfurt a. M. · Patentteil: **J. REITSTÖTTER**, München

Band 178 | Oktober 1961 | Heft 2

INHALT

Originalarbeiten

From the Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University, Tokyo (Japan)

Yamamoto, Katsumi, Satiko Okazaki and *Tsunetaka Sasaki*, The Electrodialysis of the Aqueous Solution of Surface Active Agent (with 4 figures) 97

From the Institut Agronomique, University of Louvain, Louvain (Belgium)

Eeckman, J. P. and *H. Laudelout*, Chemical Stability of Hydrogen-Montmorillonite Suspensions (with 9 figures in 14 details and 5 tables) 99

From the University College of Science, Calcutta (Indien)

Gangopadhyay, Arun Kumar, On Stability and True Zeta-Potential of Chromium Hydroxide Sol (with 4 tables) 108

Aus dem Institut für Kunststoffe der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Altenburg, Kurt, Zur Berechnung des Radius verzweigter Moleküle (mit 8 Abbildungen in 15 Einzeldarstellungen und 4 Tabellen) 112

Aus dem Institut für Kunststoffe der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Kästner, Siegfried, Die Einführung statistischer Segmente im Rahmen der Theorie des mechanischen und dielektrischen Relaxationsverhaltens von Makromolekülen in verdünnten Lösungen (mit 4 Abbildungen in 7 Einzeldarstellungen) 119

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

Stauff, J., H. Barthel, R. Jaenicke, R. Krekel und *E. Ühlein*, Die Wärmeaggregation von Proteinen in Lösung (mit 6 Abbildungen und 5 Tabellen) 128

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

Jaenicke, R. und *J. Stauff*, Aggregation eines disulfid- und sulfhydrylgruppenfreien Proteins (mit 9 Abbildungen in 18 Einzeldarstellungen, 2 Schemata und 4 Tabellen) 143

Fortsetzung siehe 2. Umschlagseite

DR. DIETRICH STEINKOPFF VERLAG · DARMSTADT

549
K92

Mit 55 Abbildungen in 80 Einzeldarstellungen, 2 Schemata und 24 Tabellen — Postverlagsort: Darmstadt

INHALT (Fortsetzung)

Aus dem Deutschen Kunststoff-Institut, Darmstadt

Johnsen, U., Die Beschreibung der Kettenstruktur von stereoregulären Hochpolymeren und ihre Bestimmung aus der Kern-Spin-Resonanz. I. Polymethylmethacrylat (mit 9 Abbildungen in 10 Einzeldarstellungen) 161

From the Chemical Laboratories, University of Allahabad (India)

Upadhya, Y. D. and *S. P. Mushran*, Verification of Bhattacharya's Equation during the Gelation of Some Succinate Sols (with 6 figures and 1 table) 170

Wissenschaftliche Kurzberichte

Aus dem Institut für theoretische Physik der Technischen Hochschule Hannover und der Textilforschungsanstalt Krefeld

Juilfs, J. und *H. Busch*, Über Untersuchungen der durch Gammastrahlung induzierten Veränderungen von Polyamid- und Polyvinylchloridfasern 173

Aus dem Institut für anorganische Chemie der Universität Poznań (Polen)

Krause, Alfons (mitbearbeitet von *W. Jagodzińska*), Die Zusammensetzung der Mizellen von essigsauren Hydrosolen hydrophiler und hydrophober Eisen-III-hydroxide (mit 1 Tabelle) . 174

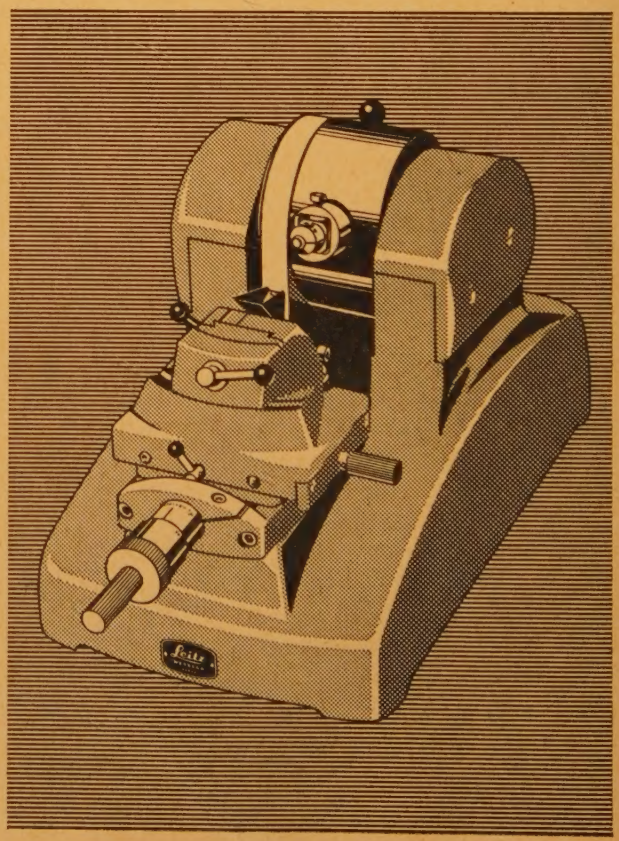
Buchbesprechungen 175

Zur Besprechung eingegangene Bücher 178

Referate 178

Leitz WETZLAR

LEITZ
Ultramikrotom



Optische Instrumente

Mikroskope
Mikrophotographische Einrichtungen
Mikrotome
Elektrophotometer LEIFO-E
Kleinbildkamera LEICA für Mikro- und Makroaufnahmen

ERNST LEITZ GMBH WETZLAR

KOLLOID-ZEITSCHRIFT

zur Zeit vereinigt mit den Kolloid-Beiheften

Band 178 Oktober 1961 Heft 2

From the Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo Metropolitan University, Tokyo (Japan)

The Electrodialysis of the Aqueous Solution of Surface Active Agent

By Katsumi Yamamoto), Satiko Okazaki and Tsunetaka Sasaki*

With 4 figures

(Received December 27, 1960)

Introduction

As to the study of the behavior of surface active substance in aqueous solution, especially, concerning the study of micelle formation, various physico-chemical methods of measurement have been adopted.

Among them, the dialysis using semipermeable membrane is considered to be one of the most direct methods. As for such an experiment *Yang* and *Foster* (1) attempted to measure the concentration of free detergent ions in equilibrium with micelles by the equilibrium dialysis of aqueous detergent solution (Santomerse No. 3, principally sodium dodecylbenzene sulfonate) both unbuffered and buffered with various salts. They observed that the equilibrium usually reached after several hours and 48 hours' dialysis would be sufficient for equilibration. They further confirmed that such ions did not distribute themselves uniformly across a cellophane membrane except at concentrations below the CMC (critical micelle concentration).

Further, *Harrap* and *O'Donnell* (2) and *Boyd* (3) also made similar studies. The former authors reported that purified sodium dodecyl sulfate, on equilibrium dialysis and in the presence of salt, did not distribute itself equally across a cellophane membrane when the total concentration was above the CMC. However, the precise examination of these data reveals that the distribution is not so distinct and quantitative as was reported by *Yang* and *Foster*.

Contrary to these findings, *Klevens* and *Carr* (4) later repeated a similar experiment with ten pure detergents and obtained the results which were not in accord with those of *Yang* and *Foster*. They showed that below the CMC, the equilibrium was attained within about two hours, while above the CMC, the time required for equilibration appeared to be the function both of the concentration and of the type of detergent used, and the time range covered around from 48 hours to 100 days or more. Furthermore, they claimed that at equilibrium there was no evidence of non-uniform distribution of detergent ions in water and in 10^{-3} N KOH solution on both sides of a membrane and that equilibrium dialysis using cellophane membrane could not generally be applied to the measurement of the CMC.

Thus the studies of the dialysis of solution of surface active substance are still not quite settled. This may be caused from the fact, that it requires rather a long time to attain the condition of equilibrium dialysis, during which the condition of semipermeability of the membrane cannot strictly be maintained for the detergent solution above the CMC. In this connection, ultrafiltration applying external pressure as was adopted by *Hutchinson* (5) is suitable for avoiding these difficulties. In the present paper, we attempted the electrodialysis of an aqueous solution of purified surface active agent. The method proved to be rather satisfactory for the study of micelle formation in the detergent solution which will be described subsequently.

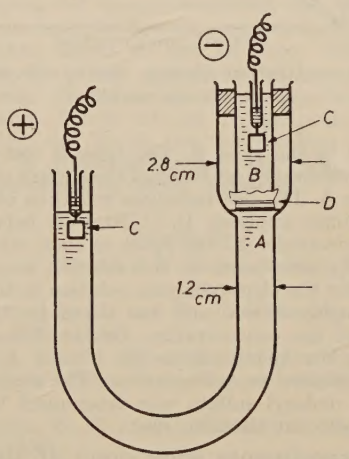


Fig. 1. The apparatures used for electrodialysis. Applied voltage: D. C. 50 V. distance between electrodes; 27 cm. A, B; dialysis tubes. C; platinium electrode. D; cellophane membrane

Experimental

Sodium dodecyl sulfate was prepared by the usual method from dodecyl alcohol distilled under reduced pressure. The purity of the sample was confirmed by the disappearance of the minimum in the surface tension-concentration curve.

*) Present address: Nihon Surfactant Industry Co., Hasune-chyo, Itabashi, Tokyo (Japan).

Visking cellophane membranes were boiled in distilled water for an hour and after rinsing, they were kept in distilled water to attain the sufficient swelling before use, or they were simply rinsed without boiling just before use.

The apparatus used for the electrodialysis was shown in fig. 1.

In this figure, U-tube A of 1.2 cm in diameter had a wider opening of 2.8 cm in diameter at one end in which the lower end of another tube B was placed. The vertical tube B was of 1.2 cm in diameter and 6.5 cm in length and its bottom was closed with a cellophane membrane. The tube B and the U-tube A were filled with the same detergent solution, 5 cc being introduced in the tube B. The tube B was adjusted so as the membrane just touched the surface of solution in the tube A. The electrodialysis was then carried out for 40 minutes applying D. C. 50 volts between two platinum electrodes 27 cm apart of each other which were simply introduced in the solution as shown in fig. 1[1]). After the electrodialysis, solution in the tube B was thoroughly stirred and was taken for the determination of the concentration. One cc of the solution just under the membrane in the U-tube A was also taken to measure its concentration. The concentration of sodium dodecyl sulfate was determined by means of the fluorescent titration (6).

The experiments were done at the room temperature ranging from 17 to 21° C.

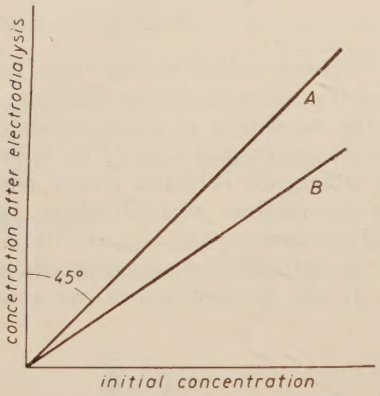


Fig. 2. Concentration change during electrodialysis (permeable to micelles)

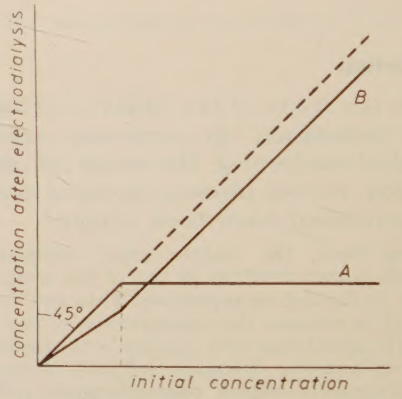


Fig. 3. Concentration change during electrodialysis (non-permeable to micelles)

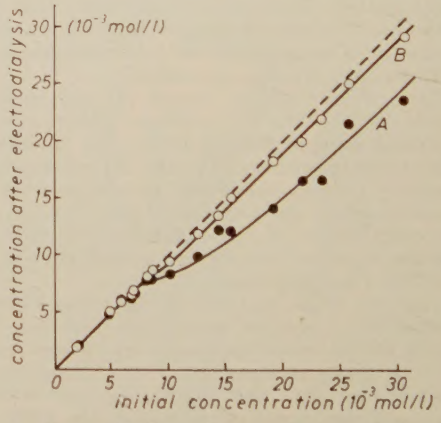


Fig. 4. Concentration change during electrodialysis (sodium dodecyl sulfate solution)

Results and Discussion

Now let us consider how the concentration changes in two tubes *A* and *B* during the electrodialysis of the aqueous detergent solution. If both the ions and the micelles are permeable through the cellophane membrane, the diagrams of the concentration in the tubes *A* and *B* after the electrodialysis plotted against initial concentration should be as shown in fig. 2. Since micelles and single ions are permeable across the membrane, the concentration in the tube *A* would not change before and after the electrodialysis, so long as the solute in the tube *B* is not exhausted. Therefore the line *A* of fig. 2 should be a straight line of 45° slope passing through the origin. The line *B* is also expected to be a straight line but of somewhat smaller inclination due to the loss of the solute during electrodialysis.

Now let us consider the case where the membrane is permeable for detergent single ions but non-permeable for micelles. As shown in fig. 3, the situation would be just the same as in fig. 2 below the CMC. Beyond the CMC, the concentration in the tube *A* would be constant if the volume of the solution taken for the determination of the concentration is sufficiently close to the membrane, since there the concentration is always kept constant to the CMC. The curve *A* of fig. 2 is thus reduced to a horizontal line beyond the CMC. The curve *B* shows a straight line of 45° slope with a kink point

[1]) We also made experiments using the reversible electrodes, but above the simple arrangement of the electrodes proved sufficient in the present experiment.

at the CMC, since beyond the CMC, the solute increases in the form of micelles which would not pass through the membrane and contribute themselves to an actual increase of concentration in the tube *B*.

The result of the present investigation was shown graphically in fig. 4. Both treatments of Visking cellophane membrane which was mentioned already did not show any appreciable difference in the final results of measurement. Below the CMC, both curves of *A* and *B* are similar to those of fig. 3. Above the CMC, we also have diagrams which are similar to those of fig. 3 as a whole. Thus we could confirm the breaking points both in the diagram of *A* and *B* at 7.4×10^{-3} mol/l which exactly coincided with the known value of the CMC of sodium dodecyl sulfate (7). We should of course notice some discrepancies between curve *A* of fig. 4 above the CMC and that of fig. 3 especially in the region of large concentration. This may come from the diffusion of the solute due to the large concentration gradient being set up below the membrane during electrodialysis of the solution at the concentration far beyond the CMC, as well as from the fact that the portion of the solution *A* taken for the concentration determination was not sufficiently near to the membrane as it should be required.

Anyhow, it is at least certain, that we can render the cellophane membrane practically semipermeable for detergent solution above the CMC even in the absence of the inorganic electrolyte, if we practice the electrodialysis of short duration instead of ordinary equilibrium dialysis, and by this method we can study the state of solute in the solution of surface active substance.

The experiments on these lines are now being continued.

Acknowledgement

The authors wish to express their hearty thanks to the Ministry of Education for the Scientific Research Expenditure given to one of the authors.

Summary

A new electrodialysis method for the study of micelle formation on aqueous solution of surface active substance is proposed. This method has advantages among other procedures using semipermeable membrane, in that (1) the time required for the measurement is far less than that of any other methods, thus the membrane can be practically rendered to be semipermeable for micelles, and (2) it is not essentially required to add an inorganic salt to inhibit the micelle permeation, so we are able to know, without extrapolation, the behavior of surface active substance free from the salt influence. We observed a sharp break point on the dialysis curve, and found that the point corresponded with the accepted CMC value of

7.4×10^{-3} mol/l

for sodium dodecyl sulfate.

Zusammenfassung

Eine neue Methode der Elektrodialyse, die für die Erforschung der Mizellbildung in wäßrigen Lösungen grenzflächenaktiver Stoffe geeignet ist, wird vorgeschlagen.

Diese Methode hat gegenüber der üblichen mit halbdurchlässiger Membran erstens den Vorteil, daß die erforderliche Meßzeit wesentlich kürzer wird, weil die Bedingung der Semipermeabilität von Membranen praktisch zu verwirklichen ist, zweitens der Zusatz von anorganischen Salzen zu den Lösungen entfällt, wodurch das Verhalten grenzflächenaktiver Stoffe in Lösung ohne Beeinflussung durch ein Salz verfolgt werden kann. Ferner ist am Beispiel von Natriumdodecylsulfat der Knick der Dialysenkurve deutlich erkennbar in Übereinstimmung mit der kritischen Mizellenkonzentration dieser Substanz.

References

1) *Yang, J. T.* and *J. F. Foster*, J. Phys. Chem. **57**, 628 (1953).

2) *Harrap, B. B.* and *I. J. O'Donnell*, J. Phys. Chem. **58**, 1097 (1954).

3) *Boyd, T. F.*, Research and Develop. Rept., I. T. L., Philadelphia Naval Shipyard, 6200 A–7, May (1956).

4) *Klevens, H. B.* and *C. W. Carr*, J. Phys. Chem. **60**, 1245 (1956).

5) *Hutchinson, E.*, Z. Phys. Chem. **21**, 38 (1959).

6) *Kondo, T.* and *K. Meguro*, J. Chem. Soc. Japan **76**, 220 (1955).

7) *Goddard, E. D., O. Harva* and *T. G. Jones*, Trans. Faraday Soc. **49**, 980 (1953); *Williams, R. J., J. N. Phillips* and *K. T. Mysels*, ibid. **51**, 728 (1955).

From the Institut Agronomique, University of Louvain, Louvain (Belgium)

Chemical Stability of Hydrogen-Montmorillonite Suspensions

By J. P. Eeckman and H. Laudelout

With 9 figures in 14 details and 5 tables

(Received November 14, 1960)

It is well-known (21) that hydrogen clays are chemically unstable and evolve spontaneously toward aluminium saturated clays. This transformation complicates greatly the study of ion exchange phenomena in which hydrogen ions are involved. Neglect of this evolution has led some authors to attribute singular properties to the hydrogen ion in

ion exchange processes on the surface of clays. This was further to be expected since electrodialysis, a method quite commonly used for desaturating clay minerals prior to ion exchange studies leads to clay suspensions which are largely saturated by aluminium ions (12, 13, 14).

Notwithstanding the fundamental and practical importance of this spontaneous evolution of hydrogen clays, its kinetics and mechanism have been very little studied, although many authors have demonstrated repeatedly its general occurrence (7, 10, 18). As far as we are aware, the only exception seems to be the work of *Chernov* (5, 6). On the other hand, a very large number of papers have been published on the acid dissolution kinetics of clay minerals.

The purpose of this paper is to present a quantitative interpretation of the parabolic rate law (16) observed in the spontaneous evolution of hydrogen into aluminium clays and to study the factors which influence the rate of this transformation.

Experimental

a) Material studied: Two montmorillonites were studied: a typical montmorillonite from Camp Berteau, Morocco, the formula of which may be written

$$\left(Si_4^{+4}\right)^{IV}\left(Al_{1.45}^{+3}\,Mg_{0.32}^{+2}\,Fe_{0.22}^{+3}\right)^{VI}O_{10}\,(OH)_2\,,$$

where only octahedral aluminium is isomorphically substituted by Fe (11%) and Mg (16%). The lattice charge originating from this substitution corresponds to 0,85 mE/g.

The other montmorillonite studied was the Wyoming bentonite, a beidellite where some of the tetrahedral silicon is substituted by aluminium in addition to the substitution of octahedral aluminium by iron and magnesium. The lattice charge is 0.82 mE/g.

b) Preparation of hydrogen saturated montmorillonites. The clays were washed repeatedly with a normal solution of sodium chloride, in order to exchange the calcium and magnesium which saturate the Camp Berteau montmorillonite in its natural state, thereafter they were repeptized by washing with distilled water and the fraction smaller than 0.2 μ was separated by centrifuging.

The excess sodium chloride was removed by washing in a high speed centrifuge and the clay suspension was passed through a 50 × 5 cm column packed with hydrogen saturated IR 120 Amberlite at a rate of 500 ml per hour.

This method of obtaining hydrogen saturated clays which has been recently studied by *Aldrich* and *Buchanan* (1) and *Higdon* and *Marshall* (12) seems to be the only one for obtaining the maximal hydrogen saturation of a given clay with the least expense of labour.

No satisfactory results were obtained with the method described by *Low* (18) consisting in the addition of a calculated amount of HCl to a silver saturated clay.

c) Determination of exchangeable hydrogen and aluminium. Hydrogen ion content was determined by a conductometric titration of the clay suspension with a barium hydroxide solution.

Exchangeable aluminium was displaced with a normal barium chloride solution and determined colorimetrically as the oxinate in chloroform solution at 397 mμ.

Results

Whatever the method used for producing a hydrogen clay, it is impossible to raise the exchangeable hydrogen ions content above a certain maximum level, say h_0 milliequivalents per gram, the remainder of the base exchange capacity being saturated by a minimum amount a_0 of aluminium ions originating from the lattice.

It is well known, as said earlier, that when a clay suspension is left to age the amount h of hydrogen ions will decrease with the time while the amount a of exchangeable aluminium ions will increase accordingly.

When hydrogen clay suspensions kept at a constant temperature are sampled repeatedly and the hydrogen and aluminium ions contents are plotted against the square root of the time, straight lines appear as shown in fig. 1.

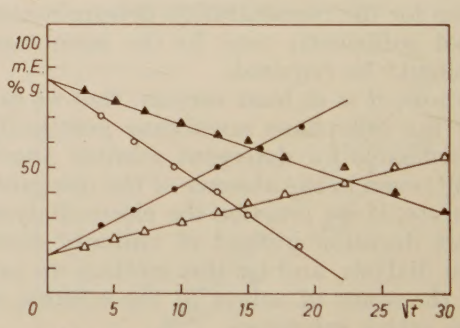


Fig. 1. Relation between exchangeable hydrogen and aluminium ion contents and the square root of the time for ageing clays, at 25° C (—△—) and 35° C (—○—)

Numerous experiments at different temperatures, ionic strengths and acidity of the suspension medium have always led to the same empirical relationship between the time and exchangeable hydrogen and aluminium.

If we choose to express this parabolic rate law as follows:

$$(h - h_0) = -k_h\sqrt{t} \qquad [1a]$$

or

$$(a - a_0) = k_a\sqrt{t}\,, \qquad [1b]$$

where k_h and k_a are two empirical constants, it is easily seen that if electroneutrality is to

be maintained k_h should be equal to k_a corrected according to the extent of the isomorphic substitution. This is indeed the case and the two values agree better than 5%.

The intercept of the straight lines on the h or a axis corresponds to the maximal hydrogen or minimal aluminium saturation of the clay.

Discussion

The fact that the maximum hydrogen saturation value is about equal to the charge of the lattice would lead one to believe that only the faces of the clay crystals may retain hydrogen ions as counterions for an appreciable amount of time. Any attempt to replace by hydrogen ions the counterions saturating the broken bonds at the edges of the crystals leads to the liberation of a stoichiometric amount of aluminium ions from the lattice.

The direct proof of this interpretation would be difficult to give since the calculation of the lattice charge from the results of chemical analysis is subject to considerable error.

On the other hand, the parabolic rate law would indicate that the ageing of a hydrogen clay consists in an interdiffusion of hydrogen and aluminium ions. The latter diffusing from the edges of the crystals toward the center against an equivalent flow of hydrogen ions which react immediately with the lattice as soon as they have reached the edge of the clay particle, thereby maintaining a constant surface concentration of aluminium ions on the edge planes.

An exchange process of hydrogen and aluminium ions between clay particles colliding edge to face is ruled out by the high surface potentials of the hydrogen saturated clays as determined by the negative adsorption method (16). We found 260 mV for the potential of the Camp Berteau montmorillonite and 220 mV for the Wyoming bentonite in a 10^{-3} N solution of sodium chloride. Further the empirical constants of the parabolic rate law are largely independent of the clay concentration as shown in the following table.

The proof of the postulated diffusion mechanism should consist in demonstrating that the empirical rate equation is numerically equivalent to a solution of *Fick*'s second law or, what amounts to the same thing, that this solution describes equally well the experimental results.

Table 1

Relation between the empirical rate constants k_h and k_a of equation [1] and the clay concentration at 50° C

Camp Berteau montmorillonite			Wyoming bentonite		
Clay conc. g/l	k_h (m E/100 g)	k_a hour$^{-1/2}$	Clay conc. g/l	k_h (m E/100 g)	k_a hour$^{-1/2}$
8.6	8.8	6.4	6.8	5.5	3.2
11.6	8.5	6.4	10.7	5.4	3.4
17.4	8.4	6.3	15.4	5.1	3.2
23.0	8.6	6.2	19.6	5.3	3.3
80.0	8.4	6.4	25.7	5.5	3.4

If we admit that the clay particles are disk-shaped, *Fick*'s second law may be written

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\left(\frac{\partial^2 c}{\partial r^2} + \frac{1}{r}\frac{\partial c}{\partial r}\right), \qquad [2]$$

where c is the surface concentration and r is the distance from the center of the particles.

This approximation of the actual geometry of the irregularly shaped montmorillonite particles will become better when the advancing diffusion front has smoothed out the irregularities of the particle perimeter from which it has started.

According to the postulated model, initial and boundary conditions are as follows.

$$c = c_0 \text{ for } r < r_0 \text{ and } t = 0$$
$$c = 0 \text{ for } r \geq r_0 \text{ and } t \geq 0\,, \qquad [3]$$

where c_0 is the initial hydrogen ion surface concentration on the flat face of the particle the radius of which is r_0. The solution of [2] under the conditions [3] is (see for instance [8]).

$$c(r,t) = 2c_0 \sum_{\nu=1}^{\infty} \frac{J_0(r\,\xi_\nu/r_0)}{\xi_\nu J_1(\xi_\nu)} \exp\left(-\xi_\nu^2 \frac{D}{r_0^2} t\right), \qquad [4]$$

where $c\,(r, t)$ is the surface concentration at a distance r from the center of the particle at time t, the ξ_ν being the roots of the equation $J_0(x) = 0$, J_0 and J_1 are *Bessel*'s function of the zero and first order respectively. D is the diffusion coefficient. Averaging this concentration from $r = 0$ to $r = r_0$ gives

$$\bar{c}\,(t) = c_0 \sum_{\nu=1}^{\infty} \frac{4}{\xi_\nu^2} \exp\left(-\xi_\nu^2 \frac{Dt}{r_0^2}\right). \qquad [5]$$

Introducing the dimensionless parameters $\gamma = c/c_0$ and $\tau = Dt/r_0^2$, we have

$$\gamma = \sum_{\nu=1}^{\infty} \frac{4}{\xi_\nu^2} \exp\left(-\xi_\nu^2\,\tau\right). \qquad [6]$$

This series converges rapidly and for sufficiently high values of τ, the first term only is a good approximation and reads in logarithmic form.

$$\ln\gamma = 2\ln(2/\xi_1) - \xi_1^2\,\tau\,. \qquad [7]$$

As shown in fig. 2, most of the experimental points fall on a straight line for sufficiently high values of the time.

The common intercept of the straight lines on the $\log \gamma$ axis should be -0.16 according to equation [7]. Actually the observed value is somewhat lower, about -0.065.

This fact may cast some doubt on the value of the parameter D/r_0^2 determined from the slope of the straight line part of a plot of $\log c/c_0$ against the time.

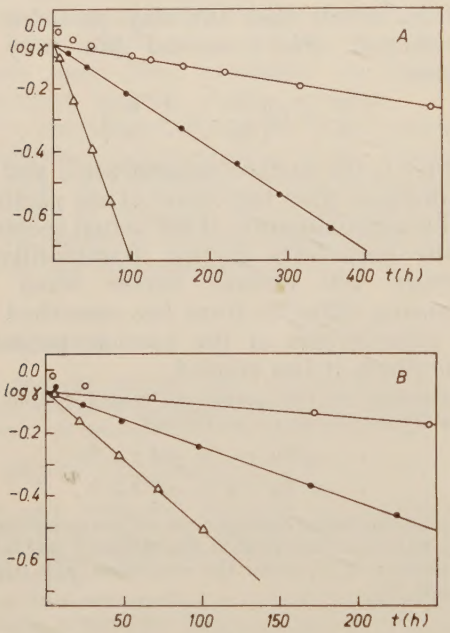


Fig. 2. Variation of $\log \gamma$ with t (hours) for the rate of transformation of two montmorillonites. A: Camp Berteau montmorillonite, B: Wyoming Bentonite ○ .... ○: 25° C, ● .... ●: 35° C, △ .... △: 50° C

A further disadvantage of this calculation method is that the initial experimental points for which the accuracy is better are not always used.

It is however quite feasible to use most of the data of a given run to calculate D/r_0^2, since it is easily shown numerically that equation [5] is equivalent to a linear relationship between $(1-\gamma)$ and $\sqrt{t}$ up to about $\gamma = 0.3$ for values of D/r_0^2 as high as 3×10^4 hour^{-1}.

The square of the slope of the theoretical straight lines thus obtained for varying values of D/r_0^2 varies linearly with D/r_0^2, the dimensionless proportionality factor being equal to 4.25.

Since the experimental rate equation may be written

$$1 - \frac{h}{h_0} = \frac{k_h}{h_0}\sqrt{t} \quad \text{or} \quad (1-\gamma) = k_h'\sqrt{t}\,,$$

it follows that the square of the empirical rate constant k_h' is simply proportional to D/r_0^2 and this affords the most simple way of calculating this parameter.

Fig. 3 shows the theoretical curve in dimensionless coordinates $1-\gamma$, τ according to equation [5].

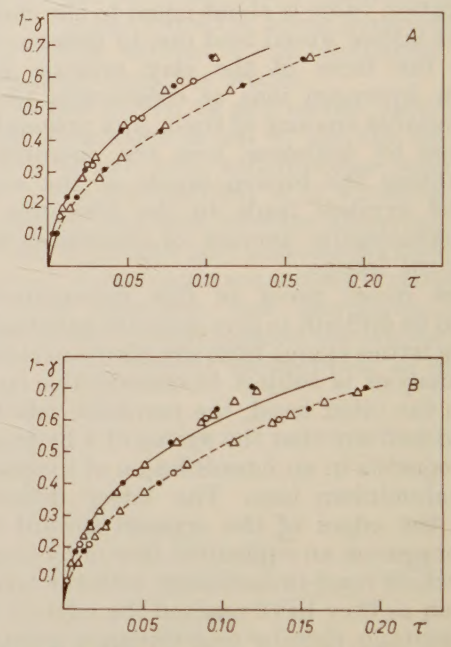


Fig. 3. Variation of $(1-\gamma)$ against $Dt/r_0^2 = \tau$ Full line: theoretical curve with the experimental points, τ being calculated numerically from the empirical constants. Broken line: experimental curve τ being calculated with the D/r_0^2 values from fig. 2 A. Wyoming bentonite. B. Camp Berteau montmorillonite △ .... △ at 25° C, ● .... ● at 35° C, ○ .... ○ at 50° C

The experimental points have been plotted according to the two reduced time coordinates obtained by multiplying the time by the D/r_0^2 values obtained either from the graphs of fig. 2 or by the numerical method which has been outlined above.

The experimental points fall on single smooth curve (broken line) if the first method is used. This curve however does not coincide with the theoretical $1-\gamma$, τ curve.

On the other hand if the D/r_0^2 values obtained from the numerical method are used, the agreement between the theoretical curve and the experimental points is satisfactory.

The determination of D, the interdiffusion coefficient of H^+ and Al^{+++} ions requires obviously the knowledge of r_0 the equivalent radius of the particle.

We have used *Weiss*'s method (22) for determining r_0 from the measurement of hydroxyl ion exchange against fluoride ions. The values of the radius calculated from the maximum fluoride adsorption are quite low for both clays, 80 Å for the Camp Berteau montmorillonite and 120 Å for the Wyoming measurement.

The radii calculated from specific surface measurement by the negative chloride adsorption method or the ethylene glycol adsorption on the supposedly disk-shaped particles would lead to values of the radii about twice as large.

Nevertheless we have consistently multiplied the calculated D/r_0^2 values by the square of the fluoride adsorption radius for obtaining the interdiffusion coefficient. It may be considered that this diffusion coefficient is thus known within an order of magnitude.

Several examples of the values thus found will be given in the following tables.

The interdiffusion coefficient of H and Al^{+++} is very low, its order of magnitude being about 10^{-20} cm^2 sec^{-1} at room temperature. Similarly low values have recently been found by *Barrer* (2) for the self-diffusion coefficient of alkali metal ions in analcite.

Influence of various factors on the interdiffusion of H^+ and Al^{+++}

1. Temperature

When the values of log (D/r_0^2) as determined from the spontaneous conversion of a H-clay into an Al-clay are plotted against $1/T$, satisfactory straight lines are obtained as shown in fig. 4:

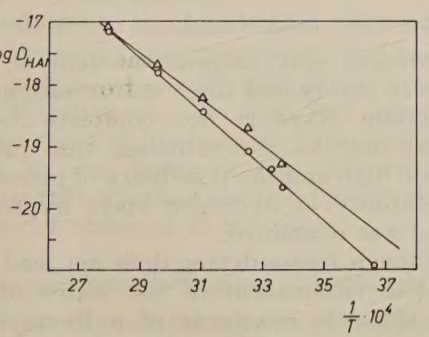


Fig. 4. *Arrhenius* plot of the interdiffusion coefficient against the absolute temperature. —△— Wyoming bentonite. —○— Camp Berteau montmorillonite

From the slopes of the straight lines, activation energies E may be calculated using the *Arrhenius* equation.

$$D = D_0 \exp(-E/RT).$$

Activation energies of 20.2 and 17.1 kcal/g. ion are calculated for the Camp Berteau montmorillonite and the Wyoming bentonite respectively.

The entropy of activation ΔS^* may be calculated from the theory of rate processes applied to diffusion (9)

$$D = e\,d^2 \frac{kT}{h} \exp(\Delta S^*/R) \exp(-E/RT)$$

where k and h are the *Boltzmann* and *Planck* constants respectively, e the base of natural logarithms and R the gas constant, d is the distance between two successive equilibrium positions of the diffusing cation.

The surface charge density of montmorillonite is rather well known and it may be estimated from it that d is about 10 Å. The activation entropies are then found to be -19.2 and -27.2 cal $mole^{-1}$ $degree^{-1}$ for the Camp Berteau montmorillonite and the Wyoming bentonite respectively.

2. Influence of the surface and solution concentration of the diffusing ions on the diffusion coefficient

It has been demonstrated (11) that the interdiffusion coefficient $D_{H,Al}$ is related to the concentrations and the individual ionic diffusion coefficients by

$$D_{H,Al} = \frac{D_H D_{Al} (C_H + 9 C_{Al})}{D_H C_H + 9 D_{Al} C_{Al}}.$$

C_H and C_{Al} being the surface concentrations of the diffusing H^+ and Al^{+++} ions.

The interdiffusion coefficient which has heretofore been considered as a constant for the solution of equation [2] is thus actually concentration dependent. It is unlikely that simple relations between the individual diffusion coefficients and the interdiffusion coefficient may be found or obtained from experimental results. It remains nevertheless interesting to determine to what extent $D_{H,Al}$ is modified when the surface and solution hydrogen ion concentrations are varied.

The most obvious way for varying the surface concentration of hydrogen ions consists in a partial neutralization of the iso-ionic hydrogen montmorillonite suspension.

Unpublished results from this laboratory have shown that the surface potential of the clay particle varies but little during the course of neutralization.

The partial neutralization of the iso-ionic hydrogen montmorillonite suspension leads to a linear decrease of the empirical rate constant k_a of equation [1] as shown in fig. 5.

Since the ratio k_a/h_0 remains constant, this would mean that the interdiffusion coefficient does not change with the degree of saturation, a fact which can be correlated with the constancy of the surface potential. If the latter is altered together with the hydrogen ion surface concentration, more complicated relations between the empirical rate constants and the surface concentration of the diffusing ion may be expected to arise.

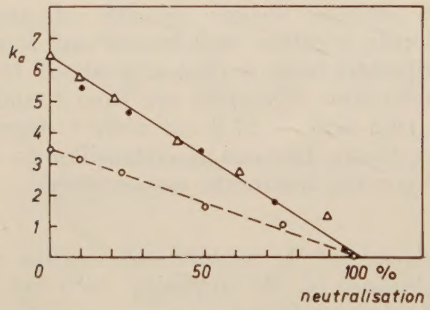


Fig. 5. Evolution of the rate constant k_a [in (mE/100g) $h^{-1/2}$] as a function of the fractional neutralization of the hydrogen clay (in percent of total acidity). Temperature 50 °C. ———: Camp Berteau montmorillonite. – – – – –: Wyoming bentonite

When hydrochloric acid is added to the iso-ionic clay suspension or when adsorbed hydrogen ions are displaced through the addition of a neutral salt, the surface concentration of hydrogen ions and the surface potential must vary simultaneously. The (volume) concentration of adsorbed hydrogen ions may be determined by measuring the concentrations on both sides of a membrane in a *Donnan* system in which clay suspensions at various concentrations of uni- or divalent cation or of added hydrochloric acid are equilibrated at low temperature against their dialysate. The empirical rate constants may then be plotted against the volume concentration of adsorbed hydrogen ions at constant clay concentration.

Before discussing the results of these experiments, it may be mentioned that the parabolic rate law is followed at all ionic strengths studied and up to about 0.5 N hydrochloric acid concentration.

Beyond this acid concentration, appear the first order solubilization kinetics which have been studied by many authors (4, 18, 19, 20).

As shown by fig. 6 whatever the method used for varying the adsorbed hydrogen ion concentration, all experimental points fall on a single smooth experimental curve. This curve may be expressed by a hyperbolic equation as shown by the good linearity of its double reciprocal plot (insert of fig. 6).

Whatever the fundamental meaning of the parameters of this equation may be, the asymptotic values of k_a correspond to the highest rate of spontaneous transformation of a hydrogen clay which may be observed when the parabolic rate law is of application. The corresponding value of the interdiffusion coefficient is 5.1×10^{-19} cm^2 sec^{-1} at 50 °C.

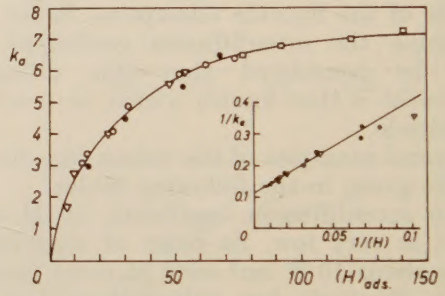


Fig. 6. Empirical rate constants as a function of the adsorbed hydrogen ions concentration (in mE/100 g)

A quantitative explanation of the hyperbolic curve of fig. 6 would be difficult since increasing the salt concentration simultaneously decreases the surface potential and the surface concentration of hydrogen and aluminium ions.

3. Clay water content and rate constants

Hydrogen clay suspensions kept at 0° C age very slowly and the transformation into aluminium clays is not complete before several months. Nevertheless this rate is still too high and the possibility of increasing the stability of hydrogen clays by freeze-drying was examined.

Although freeze drying does not lead to a complete elimination of the water of the clay, the rate constants of a freeze dried clay were appreciably lower than that of the clay suspension but are far from being negligible as shown in the following table.

Table 2

Empirical rate constants and interdiffusion coefficients for freeze-dried Camp Berteau montmorillonite (water content between 1 and 2%)

Temperature °C	k_h (mE/100 g) hour$^{-1/2}$	$D_{H, Al} \times 10^{-19}$ cm^2 sec^{-1}
32	0.3	0.0075
50	0.6	0.0302
110	1.1	0.103

Furthermore, freeze-drying causes an appreciable reduction of the initial concentration of hydrogen ions and it is generally impossible to obtain a freeze-dried montmorillonite with more than 70% of its exchange capacity saturated by hydrogen ion.

As shown in fig. 7, if the water content of the clay suspension is decreased by increasing the proportion of an organic solvent in the suspension, the rate constants decrease linearly with the water content.

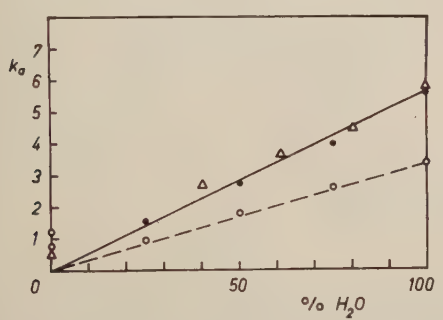


Fig. 7. Variation of the empirical rate constants with the water content of the clay suspension. ○ Ethanol-Water suspension. △ Dioxame-Water suspensions. ——— Camp Berteau Montmorillonite .... Wyoming Bentonite

The extrapolated straight lines pass through the origin, this would indicate that an anhydrous hydrogen montmorillonite is perfectly stable as such.

However the methods which can be used for dehydrating montmorillonite fail to give clays with a sufficiently high initial amount of hydrogen ions. The best and least expensive method for keeping hydrogen clays seems to be freeze-drying followed by washing with absolute alcohol. Perfect stability can be obtained in this way.

4. Successive transformations of hydrogen clays

A given clay sample may be H^+ saturated, left to age and after completion of the aging process, again saturated with hydrogen ions and so forth.

The question is obviously how these successive cycles of desaturation and spontaneous aluminium ion production influence the rate constants defined above.

Table 3 gives the results of three successive cycles.

Table 3

Characteristics of the Camp Berteau montmorillonite during three successive acidification cycles at 50° C

Cycle	h_0 mE/100 g	a_0 mE/100 g	k_h (mE/100 g) $h^{-1/2}$	$D/r^2 \times 10^3$ hour^{-1}
1st	85	15	8.0	1.95
2nd	74	15	5.7	1.40
3rd	56	16	3.7	1.03

Increasing proton dissolution of the lattice has for consequence a decrease of the exchange capacity of the clay since isomorphically substituted magnesium ions are extracted from the lattice during this reaction. The base exchange should thus decrease accordingly by about 16% at each cycle whereas the exchange capacity due to the broken bonds at the edges of the crystals must remain practically constant. This is evidenced by the results pertaining to h_0 and a_0 in table 3.

If the interdiffusion coefficient remains constant during each cycle, the decrease of the D/r_0^2 parameter may be explained by an increase of the diffusion radius r_0, the structure of the tetrahedral silica layer remaining largely undisturbed during the acid dissolution of a montmorillonite. This increase should be roughly equal to the extent of the peripheral dissolution of the gibbsitic layer.

The increases of the radius calculated from the parameters of the lattice or from the values of the D/r_0^2 parameter agree within a factor of two.

Crystallographic model of the acid dissolution process

The hypothetical steps which may be considered in the acid dissolution process of the montmorillonite lattice are summarized in fig. 8. Three protons may react with the lattice edge (fig. 8, top left) in the following way: one proton reacts with the hydroxyl attached to the aluminium ion and two others with the SiO linkages forming silanol groups, thereby setting free Al $(H_2O)^{+++}$ the coordination being completed with 5 water molecules from the solution.

The hydrated aluminium ions remain adsorbed on the edge of the crystal as gegenions of the broken bonds arising as shown in fig. 8, top right.

Three protons may now set free a new Al ion by reacting again with the SiO groups

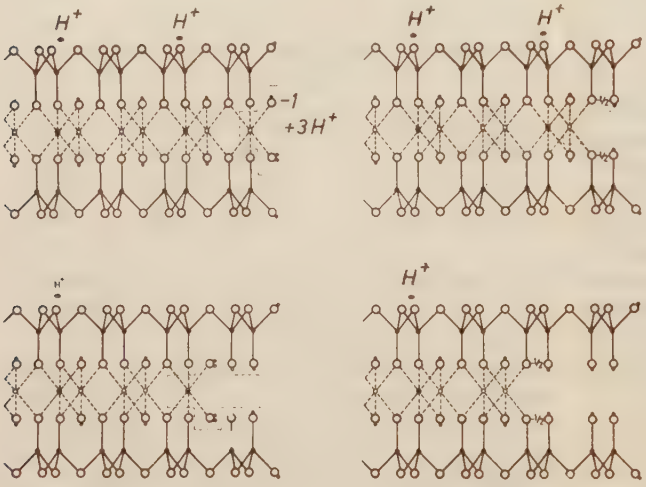


Fig. 8. Reaction with protons of the montmorillonitic lattice

to give two silanol groups, the third proton being fixed on a Al-O linkage to give $Al-OH_2$ as shown in 8, top left, except if the ion set free from the gibbsitic layer is a magnesium ion in which case the structure of fig. 8, bottom left, results. The additional proton found here corresponds to the one which neutralized the lattice charge which was induced by the magnesium ion isomorphically substituted to aluminium. Two protons will set free the magnesium ion with the formation of two new silanol groups.

Application to the kinetics of ion exchange in alumino-silicates

Several studies have already been made on the application of the solutions of the diffusion equation to the process of ion exchange (3, 11).

Since the same theory could be applied to the kinetics of ion exchange in vermiculite, it was interesting to see to what extent the values found for the diffusion coefficient on the montmorillonite surface could be compared with those found for vermiculite.

Homogeneous suspensions of non expanded vermiculite were used in these experiments, the average diameter of the particles being 0.043 cm.

For the exchanges of Na^+, Mg^{++} and La^{+++} against NH_4^+ the experimental points of fig. 9 were found.

The curves are calculated according to equation [5] for the best fit values of the parameters D/r_0^2.

If D is calculated from these values of D/r_0^2 using the measured radius of the vermiculite particle, the results of table 4 are found.

Admittedly, the value of the radius of the vermiculite crystals measured microscopically may be subject to considerable errors due to splits in the crystal faces. Nevertheless this error could hardly explain the ten orders of magnitude differences found for the diffusion coefficients in vermiculite. Similar orders of magnitude have been found for the self diffusion coefficients in synthetic ion exchanges whereas the results of *Barrer* (2) for the self-diffusion coefficients of monovalent ions in analcite are comparable to what we have found for the montmorillonites.

As shown in table 5 the temperature effect on the rate of ion exchange varies strongly with the valence of the exchanged cation.

Table 4

Interdiffusion coefficients on the surface of vermiculite

Temperature °C	$D_{Na-NH_4} \cdot 10^8$ cm² sec⁻¹	$D_{Mg-NH_4} \cdot 10^8$ cm² sec⁻¹	$D_{La,NH_4} \cdot 10^8$ cm² sec⁻¹
15	1.20	0.30	—
25	1.95	0.70	0.5
35	2.80	1.30	1.1

Table 5

Valence effect on the activation enthalpy, entropy and free energy of the diffusion process in alumino-silicates

Exchange	$D_{25°C}$ cm² sec⁻¹	ΔH^* kcal/mole	ΔS^* e. u.	ΔF^* 300°K kcal
$Na-NH_4$ [1])	1.9×10^{-8}	6.9	— 16.0	12.3
$Mg-NH_4$ [1])	0.7×10^{-8}	12.4	+ 0.4	12.8
$La-NH_4$ [1])	0.5×10^{-8}	15.1	+ 8.9	13.0
H–Al [2])	4.0×10^{-19}	19.4	— 19.0	25.7
H–Al [3])	5.5×10^{-19}	16.5	— 27.2	25.2

[1]) in vermiculite.
[2]) Camp Berteau montmorillonite.
[3]) Wyoming bentonite.

There seems to be no obvious explanation for the large difference in standard free energy of activation for the ionic diffusion process on the two substrates.

The nature and the potential of the surface of both material are very similar, the main

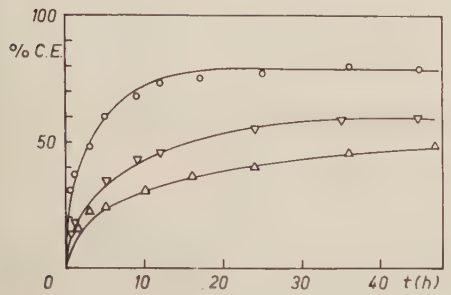


Fig. 9. Rate of exchange of Na^+ (○——○), Mg^{++} (▽——▽) and La^{+++} (△——△) in vermiculite against NH_4^+ expressed in percentage of the base exchange capacity against time in hours

differences between the two processes being on the one hand the greater closeness of the crystal faces in the vermiculite aggregates compared to montmorillonite and on the other hand the fact that the process which for short has been called here an inter-diffusion of H^+ and Al^{+++} ions is actually a diffusion of H^+ against a counterflow of aluminium and magnesium ions, in which the former largely predominate.

Acknowledgements

The work reported here was supported by the "Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture" (I.R.S.I.A.).

Thanks are due to Prof. *R. M. Barrer* for reading the manuscript before publication.

The calculations were checked by Mr. *L. Delvaux* to whom appreciation for his help is expressed.

Summary

The chemical unstability of hydrogen clays may be correlated with the dissolution by the protons of the central gibbsitic layer.

The parabolic rate law of the spontaneous transformation of a hydrogen clay into an aluminium clay indicates a diffusion process of the hydrogen ions adsorbed on the faces of the crystals against a flow of aluminium ions originating at the edges.

The solution of the diffusion equation for these assumed initial and boundary conditions agree with the experimental rate curves.

It is thereby possible to calculate the diffusion coefficient for this surface migration process.

Very low values of an order of magnitude of 10^{-20} cm^2 sec^{-1} at room temperature are found. The standard free energy of activation of the process being about 25 kcal/mole. No diffusion takes place in anhydrous montmorillonite, there is however no practical method for stabilizing a hydrogen clay without any appreciable decrease of the maximum initial hydrogen ion content.

The diffusion equation used for the hydrogen-aluminium migration on montmorillonite describes satisfactorily the rate of ion exchange in vermiculite.

Zusammenfassung

Die chemische Instabilität von Wasserstofftonen mag mit der Auflösung durch Protonen der Oktaederschicht zusammenhängen.

Das parabolische Geschwindigkeitsgesetz der spontanen Umwandlung von Wasserstoffton in Aluminiumton weist auf einen Diffusionsprozeß von Wasserstoffionen, die an den Kristallflächen adsorbiert sind, und einen gegenläufigen Fluß von Aluminiumionen, die die Kanten besetzen, hin. Für derartige Anfangs- und Randbedingungen stimmen die Lösungen der Differentialgleichungen mit den experimentell bestimmten Geschwindigkeitskurven überein.

Es ist somit möglich, den Diffusionskoeffizienten für diese Oberflächenwanderung zu ermitteln. Man findet sehr niedrige Werte von der Größenordnung 10^{-20} cm^2/sec für Raumtemperatur. Die freie Aktivierungsenergie des Prozesses liegt bei etwa 25 kcal/mol. Im trockenen Montmorillonit findet keine Diffusion statt, doch gibt es praktisch keine Methode zur Stabilisierung eines Wasserstofftons, ohne daß man zu Beginn eine beträchtliche Abnahme der ursprünglichen maximalen Wasserstoffionen-Konzentration in Kauf nimmt. Die Diffusionsgleichung für Wasserstoff-Aluminium-Wanderung in Montmorillonit beschreibt befriedigend auch die Geschwindigkeit des Ionenaustausches in Vermikulit.

Literature

1) *Aldrich, D. G.* and *J. R. Buchanan,* Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **22**, 281 (1958).

2) *Barrer, R. M.* and *L. V. C. Rees,* Trans. Faraday Soc. **56**, 709 (1960).

3) *Boyd, G. E.* and *B. A. Soldano,* J. Amer. Chem. Soc. **75**, 6091 (1953).

4) *Brindley, G. W.* and *R. F. Youell,* Acta Cryst. **4**, 495 (1951).

5) *Chernov, V. A.* and *V. S. Maksimova,* Intern. Soc. Soil Sci. Trans II and IV Comm. **2**, 179 (Hamburg 1958).

6) *Chernov, V. A.* and *V. S. Maksimova,* Dokl. Akad. Nauk. **124**, 418 (1959).

7) *Coleman, N. T.* and *M. E. Harward,* J. Amer. Chem. Soc. **75**, 6045 (1953).

8) *Dünwald, H.* and *C. Wagner,* Z. physik. Chem. B **24**, 53 (1934).

9) *Glasstone, S., K. Laidler* and *H. Eyring,* The theory of rate processes (New York 1941).

10) *Harward, M. E.* and *N. T. Coleman,* Soil Sci. **78**, 181 (1954).

11) *Helfferich, F.* and *M. S. Plesset,* J. Chem. Phys. **28**, 418 (1958).

12) *Higdon, W. T.* and *C. E. Marshall,* J. Phys. Chem. **62**, 1204 (1958).

13) *Hofmann, V.* and *K. Giese,* Kolloid-Z. **87**, 21 (1939).

14) *Kelley, W. P.,* Soil Sci. **40**, 103 (1935).

15) *Kerr, G. T., R. H. Zimmerman, H. A. Fox* and *F. H. Wells,* Clays and Clay minerals Nat. Res. Council Publ. **456**, 322 (1956).

16) *Laudelout, H.* and *J. P. Eeckman,* Intern. Soc. Soil Sci. Trans. II and IV Comm. **2**, 193 (Hamburg 1958).

17) *Laudelout, H.,* Bull. Gr. Français Argiles Publ. C.N.R.S. Paris **9**, 61 (1957).

18) *Low, P. F.,* Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **19**, 135 (1955).

19) *Osthaus, B.,* Clays and Clay Minerals Natl. Res. Council Publ. **327**, 404 (1954).

20) *Osthaus, B.,* Clays and Clay Minerals. Natl. Res. Council Publ. **456**, 301 (1956).

21) *Paver, H.* and *C. E. Marshall,* J. Soc. Chem. Ind. **53**, 750 (1934).

22) *Weiss, A., A. Mekler, G. Koch* and *M. Hofmann,* Z. anorg. allg. Chem. **284**, 247 (1956).

From the University College of Science, Calcutta (Indien)

On Stability and True Zeta-Potential of Chromium Hydroxide Sol

By Arun Kumar Gangopadhyay

With 4 tables

(Received December 15, 1960)

The stability of chromium hydroxide sol has been studied by a number of workers.

Lottermoser and *Langenscheidt* (1) found that it is precipitated irreversibly when frozen unless an excess of peptizing electrolyte is present. According to *Weiser* (2), "the stability of the sol depends primarily on its electrical charge and it behaves as a typical hydrophobic sol towards electrolytes". *Ghosh*, *Roy Chowdhury*, and *Burman* (3) have studied the relation between stability and electrokinetic potential. They have observed that the zeta-potential with mono-, bi- and tetravalent counter ions and their mixtures lie, for a given rate of coagulation, between 24 to 25 mv and concluded that there exists a critical potential (23 mv) below which the sol becomes unstable. The specific conductivities of the colloid-electrolyte mixtures with different electrolytes used by them for measuring zeta-potentials lay between 1.8×10^{-3} to 3.8×10^{-3} mhos cm^{-1} at 35 °C. It is clear from the specific conductivity data that the sol used by them was not very pure. It was, therefore, felt desirable to investigate the stability and electrokinetic potential of purer sol under controlled p_H.

The experimental results of *Powis* (6), *Mukherjee* et al. (7), *Kruyt* et al. (8) and *Ghosh* (9) on As_2S_3 sol and also of *Kruyt* et al. (10) and *Weiser* et al. (11) on AgI and other sols do not support *Hardy*'s (4) theory of coagulation at the isoelectric point or *Powis* (5) theory of coagulation at a critical potential. According to *Hermans* (12), *Verwey* and *Overbeek* (13), *Rutgers* (14), *Bikerman* (15) and others an error of the order 100% or more may occur in calculating the zeta-potential from *Smoluchowski* (16) equation.

Rutgers (14) has shown that the true zeta-potential of uniform glass capillary wall of radius 'r' in contact with a very dilute electrolyte solution or water can be determined by the following formula:

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{D} S \frac{E_1}{P}\left(1 + \frac{2\chi}{rS}\right) = \zeta_1\left(1 + \frac{2\chi}{rS}\right), \qquad [1]$$

where E_1 — streaming potential,
P — the pressure used for streaming the liquid through the capillary,
χ — the specific surface conductivity,
S — the specific conductivity of the liquid in bulk.

Overbeek and *Wijga* (17) have shown that equation [1] holds for a single glass capillary but fails in the case of a porous diaphragm made of powdered glass particles.

Ghosh (18) has shown from *Wijga*'s data on streaming potential of powdered pyrex and jena glass diaphragms that the true zeta-potential can be calculated from the following equation:

$$\zeta = \zeta_a\left(1 + \frac{2\alpha\chi}{Sr}\right), \qquad [2]$$

where α is a correction factor for the diaphragm.

Recently, *Ghosh* (19) has deduced the following equation for the true zeta-potential of the particles of As_2S_3 sol forming a diaphragm.

$$\zeta/\zeta_a = 1 + \frac{3\chi}{a\kappa} \cdot \frac{1}{S}, \qquad [3]$$

where, R — radius of the spherical particles forming the diaphragm,
a — the ratio of the volume V_2 of liquid to the volume V_1 of solid in the diaphragm,
χ — the specific surface conductivity,
S — the bulk conductivity of the supernatant solution,
ζ_a — the apparent zeta-potential calculated by using *Smoluchowski* equation from electro-osmotic data.

The above equation has been verified by *Ghosh* and *Rakshit* (20) and others on a number of colloids.

Ghosh (19) has further shown that the equation [3] can be expressed in the following form:

$$\frac{1}{\zeta_a} = \frac{1}{\zeta} + m \cdot \frac{1}{S}, \qquad [4]$$

where $m = \frac{2\alpha\chi}{r\zeta}$ and $\alpha = \frac{3V_1 r}{2V_2 R}$ and r is the average radius of a typical pore in the diaphragm.

For electrophoresis when (kR) is large (k = the reciprocal of the thickness of the double layer and R = the radius of the particles). *Ghosh* et al. (21) have shown that the expressions of *Booth* (22) and *Henry* (23) reduce to the form

$$\frac{1}{\zeta_a} = \frac{1}{\zeta} + m' \frac{1}{S}, \qquad [5]$$

where, $m' = \frac{\chi}{R\zeta}$.

For a number of sols they have found that corresponding to a given rate of coagulation by electrolytes there is a definite value of true zeta-potential independent of the valency of the counter ions used.

Experimental

The positively charged chromium hydroxide sol can be prepared by a number of methods. The author has prepared the chromium hydroxide sol using a slight modification of *Neidle* and *Barab*'s (24) method.

Preparation of the sol

To a saturated solution of chromic chloride a saturated ammonium carbonate solution is added slowly and the mixture stirred vigorously until a slight permanent precipitate is formed. Then chromic

chloride solution is added dropwise and the mixture stirred until the precipitate just goes into solution. The sol thus formed, is warmed for some time and then subjected to continuous hot dialysis. The temperature of the dialyser is maintained between 60 and 70 °C. Hot dialysis helps in two ways, firstly it removes the excess electrolyte quickly and secondly it hydrolyses the absorbed chromium chloride, such that the smaller colloidal particles agglomerate to form larger particles which do not pass through the cellophane bag. The hot dialysis is continued until the dialysed water is free from Cl^--ions. The positively charged deep green chromium hydroxide sol of p_H 4.9 thus formed is aged for 1 month in a 5 litre pyrex flask before it is used.

Determination of equicoagulating concentration of electrolytes

The concentrations of different electrolytes which coagulate a colloid at a given time have been termed as the equicoagulating concentrations.

The electrolytes used for coagulation were KCl, K_2SO_4, pot. citrate, mixture of KCl + K_2SO_4 and KCl + pot. citrate. A small amount of H_2SO_4 was used with K_2SO_4 to adjust the p_H of the final mixture to exactly the same value as in the case of KCl. Four pairs of clean dry test tubes of equal size were arranged in two rows (4 in each row) in a stand. The test tubes were marked '1' to '4' (in one of the row). Into each of the marked test tubes different amounts (2 ml or less) of an electrolyte of a definite strength were added and the volume in each tube was made upto 2 ml by the addition of conductivity water where necessary. 2 ml of sol were taken into each of the test tubes kept in the other row. Finally, the electrolyte solution in the test tube marked '1' was poured into the opposite test tube containing the sol and then the sol-electrolyte mixture was poured back into the test tube marked '1', corked and allowed to stand for 15 minutes. In the same way, the electrolyte solutions taken into the other test tubes were mixed with the sol and allowed to stand for 15 minutes. After 15 minutes standing, the sol electrolyte mixtures were centrifuged for 2 minutes at a definite speed and the supernatant solution was then examined for transparency for determining the equicoagulating concentration of the electrolytes.

In the region of slow coagulation, coagulating concentrations were determined for the following electrolytes KCl, KCl + K_2SO_4 mixture and KCl + $K_3C_6H_5O_7$ (pot. citrate) mixture. The sol-electrolyte mixtures were allowed to stand for 20 hours instead of 15 minutes. Then centrifuged for 2 minutes and examined as in the case of rapid coagulation.

Electro-osmotic experiments

A definite volume (100 ml) of sol was taken in a clean and dry jena bottle (250 ml capacity) and to it was added an equal volume of electrolyte of the requisite strength and the mixture allowed to stand for 15 minutes and 20 hours for the rapid and slow rates of coagulation respectively. The coagula, separated from the supernatant liquid after centrifuging, were transferred into a U-tube. The U-tube was centrifuged at a definite speed whereby a compact diaphragm was formed. The electro-osmotic velocity was measured by the moving bubble method of *Mukherjee* et al. (25).

The experiments were performed at 25 °C. The distance between the electrodes and the mass of coagula and volume it occupied in the U-tube were kept constant. To minimise resistance to the flow of liquid, the side tubes and the stop-cocks were so selected as to have sufficiently wide bore and the length of the air bubble in the horizontal tube was about 0.4 cm.

The extrapolated values of the true zeta-potential of chromium hydroxide sol in the region of rapid and slow rates of coagulation were found to be 32.3 mv and 39.2 mv respectively. The electro-osmotic data for rapid coagulation are recorded in the tables 1 and 2, while table 3 contains the electro-osmotic data for slow coagulation.

Table 1

Electro-osmotic data for $Cr(OH)_3$ – sol at 25° C. (Rapid rate of coagulation – 15 minutes) (Constant p_H)

$1/\zeta = 0{,}031 \quad \zeta = 32.3$ mv $\quad m = 1.136 \times 10^{-5}$

Electrolyte used	Equicoagulating concentration in (N)	Sp. cond. of the supernatant solution in mhos cm^{-1} $S \times 10^4$	p_H of the supernatant solution	ζ_a in mv calculated from experimental data using *Smoluchowski* equation	ζ_a in mv calculated from equation [4] with the values of m and ζ as recorded above
1	2	3	4	5	6
KCl	5.96×10^{-2}	80.34	5.70	30.4	30.9
KCl + K_2SO_4 + (H_2SO_4)	3.72×10^{-3} + 1.05×10^{-3} + (1.64×10^{-3})	7.22	5.70	21.5	21.4
KCl + K_2SO_4 + (H_2SO_4)	1.24×10^{-3} + 1.02×10^{-3} + (1.76×10^{-3})	3.65	5.75	15.7	16.1
K_2SO_4 + (H_2SO_4)	1.24×10^{-3} + (2.34×10^{-3})	1.88	5.70	11.3	11.0

Table 2

Electro-osmotic data for $Cr(OH)_3$ – sol at 25° C. (Rapid rate of coagulation – 15 minutes)
$1/\zeta = 0.031 \quad \zeta = 32.3$ mv $\quad m' = 6.062 \times 10^{-6}$

Electrolyte used	Equicoagulating concentration in (N)	Sp. cond. of the supernatant solution in in mhos cm^{-1} $S \times 10^4$	p_H of the supernatant solution	ζ_a in mv calculated from experimental data using *Smoluchowski* equation	ζ_a in mv calculated from equation [4] using the values of ζ and m' as recorded above
1	2	3	4	5	6
KCl	5.96×10^{-2}	80.43	5.70	30.4	31.5
KCl + $K_3C_6H_5O_7$	1.24×10^{-3} + 1.13×10^{-3}	3.59	6.32	21.2	20.7
K_2SO_4 + (H_2SO_4)	1.25×10^{-3} + (9.37×10^{-3})	1.92	6.40	16.2	16.0
$K_3C_6H_5O_7$	1.16×10^{-3}	1.74	6.10	14,7	15.2

Table 3

Electro-osmotic data for $Cr(OH)_3$ – sol at 25° C. (Slow rate of coagulation – 20 hours)
$1/\zeta = 0.0255 \quad \zeta = 39.2$ mv $\quad m = 1.143 \times 10^{-5}$

Electrolyte used	Equicoagulating concentration in (N)	Sp. cond. of the supernatant solution in mhos cm^{-1} $S \times 10^4$	p_H of the supernatant solution	ζ_a in mv calculated from experimental data using *Smoluchowski* equation	ζ_a in mv calculated from equation [4] using the values of ζ and m as recorded above
1	2	3	4	5	6
KCl	4.59×10^{-2}	71.82	5.8	36.8	36.9
KCl + $K_3C_6H_5O_7$	3.72×10^{-3} + 9.65×10^{-4}	7.09	5.9	23.8	24.0
KCl + K_2SO_4	1.24×10^{-3} + 1.08×10^{-3}	3.70	5.8	17.2	17.7
KCl + K_2SO_4	2.48×10^{-4} + 1.14×10^{-3}	2.39	5.9	13.7	13.6

Table 4

Electrophoretic data of $Cr(OH)_3$ – sol at 25° C. (Slow rate of coagulation – 20 hours)
$1/\zeta = 0.02557 \quad \zeta = 39.10$ mv $\quad m' = 7.638 \times 10^{-7}$

Electrolyte used	Equicoagulating concentration in (N)	Sp. cond. of the supernatant solution in mhos cm^{-1} $S \times 10^4$	Sp. cond. of the sol electrolyte mixture in mhos cm^{-1} $S \times 10^4$	ζ_a in mv calculated from experimental data using *Smoluchowski* equation	ζ_a in mv calculated from equation [5] using the values of ζ and m' as recorded above
1	2	3	4	5	6
KCl	4.59×10^{-2}	65.35	65.34	38.5	38.6
KCl + $K_3C_6H_5O_7$	3.72×10^{-3} + 9.65×10^{-3}	7.06	6.86	39.1	37.2
KCl + K_2SO_4	1.24×10^{-3} + 1.08×10^{-3}	3.66	3.59	35.4	35.9
KCl + K_2SO_4	2.48×10^{-4} + 1.14×10^{-3}	2.35	2.11	34.4	34.3

The p_H of the supernatant solutions for rapid coagulation by KCl, K_2SO_4, pot. citrate, KCl + pot. citrate mixture, was found to vary appreciably (vide, table 2, column 4). With a view to ascertain if variation of p_H has any effect on true zeta-potential some experiments were performed in which the p_H of the supernatant solutions obtained by using the aforesaid electrolytes were maintained constant, by adjustment with dilute H_2SO_4 solution (vide, table 1, column 4).

Electrophoretic experiments

These experiments were carried out at 25° C in a modified form of *Burton*'s U-tube apparatus [*Ghosh* et al. (21)].

Reversible Ag, AgCl electrodes were used and the electrolytes selected contained Cl^- as anion.

Preparation of the colloid-electrolyte mixture

40 ml of the sol, were mixed with 40 ml of an electrolyte of desired strength and allowed to stand for 18 minutes and then centrifuged for 2 minutes at a definite low speed. The heavier particles settled at the bottom and the rest of the colloid electrolyte mixture decanted off and used for filling the lower part and funnel of the U-tube.

Preparation of the supernatant liquid

100 ml of the sol were mixed with 100 ml of the electrolyte of desired strength in a jena bottle and allowed to stand for 20 hours. After this period the colloid-electrolyte mixture was centrifuged for 3 minutes at a definite speed whereby a clear supernatant liquid was obtained. This was stored in a jena bottle and used for filling the upper part of the U-tube and electrode vessels communicating with the limbs of the U-tube through ground glass joints. The coagula which remained in the centrifuge tubes were used for the preparation of the diaphragm required for electro-osmotic experiments.

The distance moved by the colloid boundary under a given current in a given time was measured. The mean value of the upward and downward movement of the boundary was taken for the calculation of ζ_a by *Smoluchowski* equation. The results are recorded in table 4.

Discussion

From the data recorded in the columns (3) and (5) of the tables 1 to 3 and the columns (3, 4 and 5) of table 4 the values of $1/S$ and $1/\zeta_a$ have been calculated and when these are plotted a straight line is obtained. The true zeta-potential is found from the intercept of the straight line on the $1/\zeta_a$ axis.

It appears from the data in the tables 1 and 2, that the effect of surface conductance is quite appreciable. The values of ζ_a for rapid coagulation by different electrolytes varied from 11.3 to 30.4 mv (table 1) when p_H of the supernatant solution was kept constant and 14.7 to 30.4 mv (table 2) when p_H of the supernatant solution was not kept constant. The values of ζ_a for different electrolytes evaluated by means of equation [4] are compared with the corresponding values found from electro-osmotic data using *Smoluchowski* equation. It will be noticed that the two sets of values of ζ_a do not differ appreciably from one another.

With a view to study the effect of p_H on the evaluation of true zeta-potential (ζ), the p_H of the supernatant solutions with different electrolytes in one set of experiments are kept constant by adding the requisite quantity of dilute H_2SO_4 solution. It is found from the data in the tables 1 and 2 that though the p_H of the supernatant solutions differ, yet the true zeta-potential remains identical in both the cases.

The p_H of the supernatant solutions for the slow rate of coagulations remained within 5.8 to 5.9.

Again, the effect of surface conductance is also appreciable for electro-osmotic method in the region of slow coagulation. The values of ζ_a for different electrolytes varied from 13.7 to 36.8 mv. Moreover, it is seen from the columns (5) and (6) of table 3 that the evaluated values of ζ_a agree well with those calculated from the experimental data using *Smoluchowski* equation.

However, the effect of surface conductance is not so marked in electrophoretic method as in electro-osmotic method. The values of ζ_a obtained with the help of equation [5] agree well with those calculated from the experimental data using *Smoluchowski* equation (vide table 4).

The true zeta-potential (ζ) found by electro-osmotic method in the region of slow coagulation is 39.2 mv (vide table 3) and that found by electrophoretic method is 39.1 mv (vide, table 4). The agreement between the true values of ζ obtained by two methods is thus quite satisfactory.

In conclusion it may be pointed out that a fairly pure chromium hydroxide sol (as indicated by its low specific conductivity) possesses appreciable surface conductance.

Acknowledgement

I express my thanks and indebtedness to the Council of Scientific and Industrial Research for the financial help which enabled me to carry out the research work

and my deep sense of gratitude to Professor *B. N. Ghosh*, Palit Professor of Chemistry University College of Science, Calcutta, for his constant advice, encouragement and interest during the progress of the work.

Summary

A fairly pure and stable chromium hydroxide sol has been prepared by a slight modification of *Neidle* and *Barab*'s method. The effect of p_H on the true zeta-potential has been investigated. For rapid coagulation the true zeta-potential of the sol both for controlled and uncontrolled conditions of p_H has been found to be 32.3 mv; while for slow coagulation the true zeta-potential found by electro-osmotic method is 39.2 mv and that by electrophoretic method is 39.1 mv.

Correction for surface conductance which is quite marked under the conditions of the experiment has been applied by using an equation of the form

$$1/\zeta_a = 1/\zeta + m \cdot 1/S \,.$$

It has been found that a given rate of coagulation of the chromium hydroxide sol is characterised by a definite value of true zeta-potential independent of the valency of the counter-ions used.

Zusammenfassung

Ein möglichst sauberes und stabiles Chromhydroxidsol wurde nach einer leicht modifizierten Methode von *Neidle* und *Barab* präpariert. Der Einfluß des p_H auf das wahre Zeta-Potential wurde untersucht. Für rasche Koagulation für kontrollierte wie unkontrollierte p_H-Bedingungen wird dieses zu 32.3 mV gefunden, während es bei langsamer Koagulation aus elektroosmotischen Messungen 39,2 mV, aus elektrophoretischen 39,1 mV beträgt.

Gemäß der Gleichung

$$1/\zeta_a = 1/\zeta + m \cdot 1/S$$

wurde eine Korrektur für die Oberflächenleitfähigkeit S angebracht, die unter den gegebenen experimentellen Bedingungen sehr beträchtlich ist. Es ließ sich zeigen, daß die Koagulationsgeschwindigkeit des Sols durch einen bestimmten Wert des Zeta-Potentials, unabhängig von der Wertigkeit der verwendeten Gegenionen, charakterisiert ist.

References

1) *Lottermoser* and *Langenscheidt*, Kolloid-Z. **58**, 336 (1932).
2) *Weiser*, Inorg. Coll. Chem. ed. by *Weiser* **2**, 140, (New York 1935).
3) *Ghosh*, *Roy Chowdhury* and *Burman*, J. Ind. Chem. Soc. **5**, 735 (1928).
4) *Hardy*, Proc. Roy. Soc. A. **66**, 110 (1900).
5) *Powis*, Z. physik. Chem. **89**, 186 (1915).
6) *Powis*, J. Chem. Soc. **109**, 734 (1916).
7) *Mukherjee* et al., J. Ind. Chem. Soc. **5**, 735 (1928).
8) *Kruyt* et al., Z. physik. Chem. **130**, 170 (1927).
9) *Ghosh*, J. Chem. Soc., **1929**, 2603.
10) *Kruyt* et al., Kolloid-Z. **78**, 32 (1938).
11. *Weiser* et al, J. Phys. Chem. **42**, 427 (1938).
12) *Hermans*, Trans. Far. Soc. **36**, 133 (1940).
13) *Verwey* and *Overbeek*, Theory of the Stability of Lyophobic Colloids (Amsterdam 1948).
14) *Rutgers*, Trans. Far. Soc. **36**, 69 (1940).
15) *Bikerman*, Trans. Far. Soc. **36**, 154 (1940).
16) *Smoluchowski*, Z. physik. Chem. **93**, 129 (1918).
17) *Overbeek* and *Wijga*, Rec. Trac. Chim. **65**, 556 (1946).
18) *Ghosh*, J. Ind. Chem. Soc. **31**, 274 (1954); ibid., **31**, 393 (1954).
19) *Ghosh*, Trans. Far. Soc. **49**, 1477 (1953).
20) *Ghosh* and *Rakshit*, Science and Culture **18**, 498 (1954).
21) *Ghosh* et al., Nature (London) **176**, 1081 (1955).
22) *Booth*, Trans. Far. Soc. **44**, 455 (1948).
23) *Henry*, Trans. Far. Soc. **44**, 1021 (1948).
24) *Neidle* and *Barab*, J. Amer. Chem. Soc. **38**, 1962 (1916); ibid, **39**, 71 (1917).
25) *Mukherjee* et al., J. Ind. Chem. Soc. **4**, 493 (1927).

Aus dem Institut für Kunststoffe der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Zur Berechnung des Radius verzweigter Moleküle

*Von Kurt Altenburg**)

Mit 8 Abbildungen in 15 Einzeldarstellungen und 4 Tabellen

(Eingegangen am 13. Dezember 1960)

Einleitung

Der Radius von Kettenmolekülen interessiert in der hydrodynamischen Theorie der Diffusion, der Sedimentation und der Viskosität. Darüber hinaus hat es sich neuerdings gezeigt, daß er auch für die Berechnung der Schallgeschwindigkeit (1) und des kritischen Parameters (2) von Bedeutung ist und daß gewisse Zusammenhänge mit der Reaktionsfähigkeit bestehen.

Für lineare Kettenmoleküle hat *Debye* (3) den Molekülradius berechnet. Für verzweigte Moleküle sind von *Zimm* und *Stockmayer* (4) und *Zimm* und *Kilb* (5) für das Segmentmodell (völlig freie Drehbarkeit der Segmente in allen Richtungen) Näherungslösungen angegeben worden.

Im folgenden soll gezeigt werden, daß auch für verzweigte Moleküle eine einfache exakte Berechnung des quadratischen Mittelwertes des Molekülradius unter Benutzung des Segmentmodelles und des Modelles der Valenzwinkelkette (freie Drehbarkeit um die Valenzrichtung unter Berücksichtigung des Valenzwinkels) möglich ist.

*) Jetzige Anschrift: Forschungsgruppe für Theoretische Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Adlershof.

Theoretische Grundlagen

Wir betrachten ein Molekül, das aus N gleichen Massenpunkten (Atomen bzw. Atomgruppen) besteht. Der Radius R des Moleküls ist dann durch folgende Beziehung definiert:

$$R^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} r_i^2 , \qquad [1]$$

wobei r_i der Abstand des i-ten Massenpunktes vom Schwerpunkt des Moleküls ist. Entsprechend der statistischen Formenmannigfaltigkeit ist zur Berechnung des *mittleren* Radiusquadrates noch über alle Konfigurationen zu mitteln:

$$\overline{R^2} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \overline{r_i^2} . \qquad [2]^{1})$$

Durch elementare Betrachtungen (4) erhält man für den quadratischen Mittelwert des Radius:

$$\overline{R^2} = \frac{1}{2N^2} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} \overline{s_{ij}^2} . \qquad [3]$$

Hierbei ist s_{ij} der Abstand des i-ten vom j-ten Massenpunkt des Moleküls. Von der Richtigkeit und der Allgemeingültigkeit dieser Beziehung kann man sich leicht durch folgende Überlegung überzeugen. Aus geometrischen Gründen gilt (vgl. Abb. 1):

$$\mathfrak{s}_{ij} = \mathfrak{r}_i - \mathfrak{r}_j , \qquad [4]$$

wobei $\mathfrak{s}_{ij}$ der Verbindungsvektor zwischen zwei Massenpunkten und $\mathfrak{r}_i$ bzw. $\mathfrak{r}_j$ der Vektor vom Schwerpunkt S zu diesen

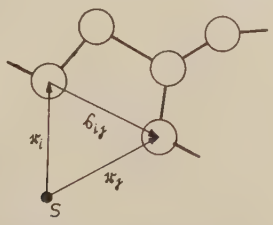


Abb. 1. Zur Berechnung des Radius eines verzweigten Moleküls

Massenpunkten ist. Multipliziert man diese Beziehung mit sich selbst skalar und summiert über alle i und j, so erhält man

$$\sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} \mathfrak{s}_{ij}^2 = \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} s_{ij}^2 = \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} (\mathfrak{r}_i^2 + \mathfrak{r}_j^2 - 2\,\mathfrak{r}_i \mathfrak{r}_j) . \qquad [5]$$

Die ersten beiden Terme der rechten Seite dieser Gleichung ergeben bei der Summierung jeweils $N \sum_i \mathfrak{r}_i^2 = N \sum_i r_i^2$; der dritte Term verschwindet, da für den Schwerpunkt definitionsgemäß $\sum_i \mathfrak{r}_i = 0$ ist. Damit folgt unmittelbar Gl. [2] bzw. [3].

Eine exakte Lösung der Gl. [3] kann man leicht für bestimmte Molekülmodelle angeben, wenn man sich die anschauliche Bedeutung dieser Gleichung vergegenwärtigt. Diese Gleichung besagt, daß man den quadratischen Mittelwert des Radius erhält,

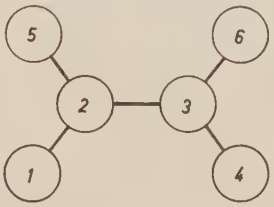


Abb. 2. Zur Berechnung des Radius von 2,3-Dimethylbutan

wenn man über alle möglichen in dem Molekül zwischen den Massenpunkten vorkommenden Abständen summiert. Hierbei ist noch zu berücksichtigen, daß diese Abstände im Mittel – bei gleichem Abstand benachbarter Massenpunkte – nur von der Differenz $|i - j|$ abhängen. Für den quadratischen Mittelwert des Radius erhält man also

$$\overline{R^2} = \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^{Z} n_i \overline{a_i^2} , \qquad [6]^{2})$$

wobei n_i die Häufigkeit der einzelnen Abstände und $\overline{a_i^2}$ der quadratische Mittelwert der entsprechenden Abstände und Z die Zahl der Bindungen der längsten im Molekül vorkommenden Kette ist; für *lineare* Ketten ist Z gleich der Gesamtzahl der Bindungen. Die Häufigkeit der einzelnen Abstände erhält man durch Abzählen.

Für 2,3-Dimethylbutan (vgl. Abb. 2) ergibt sich z. B.:

$n_1 = 5$; (1–2; 2–3; 3–4; 2–5; 3–6)
$n_2 = 6$; (1–3; 1–5; 2–4; 2–6; 3–5; 4–6)
$n_3 = 4$; (1–4; 1–6; 5–4; 5–6).

Für den Radius erhält man in diesem Falle

$$\overline{R^2} = \frac{1}{36} [5\,\bar{a}_1^2 + 6\,\bar{a}_2^2 + 4\,\bar{a}_3^2] .$$

Es gilt außerdem allgemein

$$\sum_{i=1}^{Z} n_i = \frac{1}{2} N (N-1) = \frac{1}{2} Z (Z+1) . \qquad [6a]$$

[1]) Ist die Gesamtmasse des Moleküls gleich M, so erhält man [vgl. (6)] für das *mittlere Trägheitsmoment* $I = \frac{2}{3} M \overline{R^2}$.

[2]) Während in Gl. [3] über alle Abstände doppelt summiert wird, summieren wir im folgenden über diese Abstände nur einfach; deshalb entfällt der Faktor 1/2.

Führt man den Abstand zweier benachbarter Massenpunkte, d. h. die Länge einer Bindung a_1 in Gl. [6] ein, so folgt:

$$\overline{R^2} = \frac{a_1^2}{N^2} S^2$$

mit

$$S^2 = \sum_{i=1}^{Z} n_i A_i^2$$

und

$$A_i^2 = \frac{\overline{a_i^2}}{a_1^2} . \qquad [7]$$

Die dimensionale Größe S^2 wollen wir im folgenden „*reduzierter Radius*" nennen[3]).

Die quadratischen Mittelwerte der verschiedenen Abstände, die den Fadenabständen linearer Fadenmoleküle entsprechen, sind bekannt[4]). Für das Segmentmodell ist

$$A_{Si}^2 = \frac{\overline{a_{Si}^2}}{a_1^2} = Z_i . \qquad [8]$$

Für die Valenzwinkelkette gilt nach *Eyring* (7)

$$A_{Vi}^2 = \frac{a_{Vi}^2}{a_1^2} = \frac{Z_i(1-\cos^2\vartheta) - 2\cos\vartheta + 2\cos^{Z_i+1}\vartheta}{(1-\cos\vartheta)^2} \qquad [9]$$

Hierbei ist Z_i die Zahl der Bindungen der linearen Kette[5]) und ϑ der Supplementwinkel des Valenzwinkels; bei einer paraffinischen Kette ist $\vartheta = 180° - 109° 28' = 70° 32'$. Speziell für eine derartige Kette erhält man ($\cos\vartheta = 1/3$)

$$A_{Vi}^2 = 2 Z_i + \frac{3}{2}\left[\left(\frac{1}{3}\right)^{Z_i} - 1\right] . \qquad [10]$$

Für große Werte von Z_i ergibt sich näherungsweise

$$A_{Vi}^2 \approx 2 Z_i - \frac{3}{2} . \qquad [11][6])$$

Für $Z_i = 1 \ldots 8$ sind die Werte für $A_{Vi}^2 = \frac{\overline{a_{Vi}^2}}{a_1^2}$ in Tab. 1 zusammengestellt.

Aus den Gleichungen [7] und [8] folgt für das Segmentmodell

$$S_S^2 = \sum_{i=1}^{Z} n_i Z_i . \qquad [12]$$

Tabelle 1

Quadratische Mittelwerte des Fadenabstandes für die Valenzwinkelkette

Z_i	A_{Vi}^2	Z_i	A_{Vi}^2
1	1	5	$8\frac{41}{81}$
2	$2\frac{2}{3}$	6	$10\frac{122}{243}$
3	$4\frac{5}{9}$	7	$12\frac{365}{729}$
4	$6\frac{14}{27}$	8	$14\frac{1094}{2187}$

Entsprechend ergibt sich mit Gl. [10] für die Valenzwinkelkette unter Berücksichtigung des Tetraederwinkels

$$S_V^2 = \sum_{i=1}^{Z} n_i \left[2 Z_i + \frac{3}{2}\left(\frac{1}{3}\right)^{Z_i} - \frac{3}{2}\right] . \qquad [13]$$

Für die *lineare* Kette ist (s. Tab. 2) $n_i = Z + 1 - i = N_l - i$; N_l ist dabei die Zahl der Massenpunkte der *linearen* Kette. Man erhält damit aus Gl. [7]

$$(S^2)_{\text{lin}} = A^2 = \sum_{i=1}^{Z} (Z+1-i) A_i^2 = \sum_{i=1}^{N_l-1} (N_l-1) A_i^2 . \qquad [14]$$

Führt man für A_i^2 die durch Gl. [8] bzw. [10] gegebenen Ausdrücke ein, so kann man die so entstehenden Reihen aufsummieren und erhält nach einigen Umformungen für das Segmentmodell

$$A_S^2 = \frac{1}{6}(Z^3 + 3 Z^2 + 2 Z) \qquad [15]$$

bzw.

$$A_S^2 = \frac{1}{6}(N_l^3 - N_l) \qquad [15a]$$

und für die Valenzwinkelkette

$$A_V^2 = \frac{1}{3} Z^3 + \frac{1}{4} Z^2 + \frac{2}{3} Z - \frac{3}{8} + \frac{3}{8}\left(\frac{1}{3}\right)^Z \qquad [16]$$

bzw.

$$A_V^2 = \frac{1}{3} N_l^3 - \frac{3}{4} N_l^2 + \frac{7}{6} N_l - \frac{9}{8} + \frac{9}{8}\left(\frac{1}{3}\right)^{N_l} . \qquad [16a]$$

Der Radius verzweigter niedermolekularer Paraffine

Die unter Benutzung der Gl. [12] (Segmentmodell) bzw. Gl. [13] (Valenzwinkelkette) berechneten reduzierten Radien und die sich hieraus ergebenden quadratischen Mittelwerte der Radien aller isomerer Paraffine bis zu den Oktanen ($N \leq 8$) sind in

[3]) Tatsächlich stellt diese Größe den *Mittelwert des Quadrats* eines Radius in bezogenen Größen dar. Der Kürze wegen wollen wir jedoch hierfür obige Bezeichnung benutzen.

[4]) Wir setzen im folgenden voraus, daß *keine* Ringbildung eintritt.

[5]) Z_i ist also um eine Einheit kleiner als die Zahl der Atome der entsprechenden Kette.

[6]) Für $Z_i > 4$ unterscheidet sich dieser Wert vom exakten um $< 1\%$. Für sehr große Werte von Z_i kann man darüber hinaus den letzten Term der Gl. [11] vernachlässigen. Dies bedingt aber auch für $Z_i = 75$ noch einen Fehler von 1%.

Tabelle 2

Reduzierte Radien S^2 und quadratische Mittelwerte der Radien $\overline{R^2}$ isomerer Paraffine, berechnet unter Benutzung des Segmentmodelles (S) und des Modelles der Valenzwinkelkette (V)

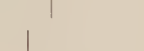
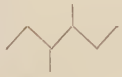
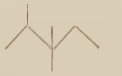
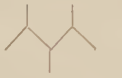
Substanz	Strukturformel	$\sum n_i \overline{a_i^2}$	S_S^2	$\frac{\overline{R_S^2}}{a_1^2}$	S_V^2	$\frac{\overline{R_V^2}}{a_1^2}$
I	II	III	IV	V	VI	VII
Äthan		$1a_1^2$	1	0,2500	1	0,2500
Propan		$2a_1^2+a_2^2$	4	0,4444	$4\frac{2}{3}$	0,5185
n-Butan		$3a_1^2+2a_2^2+a_3^2$	10	0,6250	$12\frac{8}{9}$	0,8056
iso-Butan		$3a_1^2+3a_2^2$	9	0,5625	11	0,6875
n-Pentan		$4a_1^2+3a_2^2+2a_3^2+a_4^2$	20	0,8000	$27\frac{17}{27}$	1,1048
2-Methylbutan		$4a_1^2+4a_2^2+2a_3^2$	18	0,7200	$23\frac{7}{9}$	0,9511
2,2-Dimethylpropan		$4a_1^2+6a_2^2$	16	0,6400	20	0,8000
n-Hexan		$5a_1^2+4a_2^2+3a_3^2+2a_4^2+a_5^2$	35	0,9722	$50\frac{71}{81}$	1,4132
2-Methylpentan		$5a_1^2+5a_2^2+3a_3^2+2a_4^2$	32	0,8888	$45\frac{1}{27}$	1,2510
3-Methylpentan		$5a_1^2+5a_2^2+4a_3^2+a_4^2$	31	0,8611	$43\frac{2}{27}$	1,1965
2,2-Dimethylbutan		$5a_1^2+7a_2^2+3a_3^2$	28	0,7777	$37\frac{1}{3}$	1,0370
2,3-Dimethylbutan		$5a_1^2+6a_2^2+4a_3^2$	29	0,8055	$39\frac{2}{9}$	1,0895
n-Heptan		$6a_1^2+5a_2^2+4a_3^2+3a_4^2+$ $+2a_5^2+a_6^2$	56	1,1429	$84\frac{152}{243}$	1,7271
2-Methylhexan		$6a_1^2+6a_2^2+4a_3^2+3a_4^2+2a_5^2$	52	1,0612	$76\frac{64}{81}$	1,5672
3-Methylhexan		$6a_1^2+6a_2^2+5a_3^2+3a_4^2+a_5^2$	50	1,0204	$72\frac{68}{81}$	1,4865
3-Äthylpentan		$6a_1^2+6a_2^2+6a_3^2+3a_4^2$	48	0,9796	$68\frac{8}{9}$	1,4059
2,2-Dimethylpentan		$6a_1^2+8a_2^2+4a_3^2+3a_4^2$	46	0,9388	$65\frac{1}{9}$	1,3288
2,3-Dimethylpentan		$6a_1^2+7a_2^2+6a_3^2+2a_4^2$	46	0,9388	$65\frac{1}{27}$	1,3273
2,4-Dimethylpentan		$6a_1^2+7a_2^2+4a_3^2+4a_4^2$	48	0,9796	$68\frac{26}{27}$	1,4074
3,3-Dimethylpentan		$6a_1^2+8a_2^2+6a_3^2+a_4^2$	44	0,8980	$61\frac{5}{27}$	1,2487
2,2,3-Trimethylbutan		$6a_1^2+9a_2^2+6a_3^2$	42	0,8571	$57\frac{1}{3}$	1,1701
n-Oktan		$7a_1^2+6a_2^2+5a_3^2+4a_4^2+$ $+3a_5^2+2a_6^2+a_7^2$	84	1,3125	$130\frac{638}{729}$	2,0449
2-Methylheptan		$7a_1^2+7a_2^2+5a_3^2+4a_4^2+$ $+3a_5^2+2a_6^2$	79	1,2344	$121\frac{10}{243}$	1,8913
3-Methylheptan		$7a_1^2+7a_2^2+6a_3^2+4a_4^2+$ $+3a_5^2+a_6^2$	76	1,1875	$115\frac{23}{243}$	1,7984
4-Methylheptan		$7a_1^2+7a_2^2+6a_3^2+5a_4^2+$ $+2a_5^2+a_6^2$	75	1,1719	$113\frac{26}{243}$	1,7673

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Substanz	Strukturformel	$\sum n_i \overline{a_i^2}$	S_S^2	$\frac{\overline{R_S^2}}{a_1^2}$	S_V^2	$\frac{\overline{R_V^2}}{a_1^2}$
I	II	III	IV	V	VI	VII
3-Äthylhexan		$7a_1^2+7a_2^2+7a_3^2+5a_4^2+2a_5^2$	72	1,1250	$107\frac{13}{81}$	1,6744
2,2-Dimethylhexan		$7a_1^2+9a_2^2+5a_3^2+4a_4^2+3a_5^2$	71	1,1094	$105\frac{10}{27}$	1,6464
2,3-Dimethylhexan		$7a_1^2+8a_2^2+7a_3^2+4a_4^2+2a_5^2$	70	1,0938	$103\frac{25}{81}$	1,6142
2,4-Dimethylhexan		$7a_1^2+8a_2^2+6a_3^2+5a_4^2+2a_5^2$	71	1,1094	$105\frac{22}{81}$	1,6449
2,5-Dimethylhexan		$7a_1^2+8a_2^2+5a_3^2+4a_4^2+4a_5^2$	74	1,1563	$111\frac{17}{81}$	1,7377
3,3-Dimethylhexan		$7a_1^2+9a_2^2+7a_3^2+4a_4^2+a_5^2$	67	1,0469	$97\frac{38}{81}$	1,5230
3,4-Dimethylhexan		$7a_1^2+8a_2^2+8a_3^2+4a_4^2+a_5^2$	68	1,0625	$99\frac{29}{81}$	1,5525
2-Methyl-3-Äthylpentan		$7a_1^2+8a_2^2+8a_3^2+5a_4^2$	67	1,0469	$97\frac{10}{27}$	1,5214
3-Methyl-3-Äthylpentan		$7a_1^2+9a_2^2+9a_3^2+3a_4^2$	64	1,0000	$91\frac{5}{9}$	1,4306
2,2,3-Trimethylpentan		$7a_1^2+10a_2^2+8a_3^2+3a_4^2$	63	0,9844	$89\frac{2}{3}$	1,4010
2,2,4-Trimethylpentan		$7a_1^2+10a_2^2+5a_3^2+6a_4^2$	66	1,0313	$95\frac{5}{9}$	1,4931
2,3,3-Trimethylpentan		$7a_1^2+10a_2^2+9a_3^2+2a_4^2$	62	0,9688	$87\frac{2}{3}$	1,3698
2,3,4-Trimethylpentan		$7a_1^2+9a_2^2+8a_3^2+4a_4^2$	65	1,0156	$93\frac{14}{27}$	1,4612
2,2,3,3-Tetramethylbutan		$7a_1^2+12a_2^2+9a_3^2$	58	0,9063	80	1,2500

Tab. 2 zusammengestellt[7]). Bei diesen Berechnungen sind die Wasserstoffatome nicht berücksichtigt worden; ein Molekül der Form C_nH_{2n+2} wird durch n gleiche Massenpunkte ersetzt.

Zum Vergleich mit den Ergebnissen von *Zimm* und *Stockmayer* (4) ist für einige hypothetische Moleküle in Tab. 3 der von diesen Autoren berechnete g-Faktor[8]) den nach Gl. [7] und [12] berechneten gegenübergestellt. Geringfügige Abweichungen ergeben sich aus dem Näherungscharakter der Rechnungen von *Zimm* und *Stockmayer*.

Die Berechnung des Radius verzweigter Makromoleküle

Man kann im Prinzip auf die im vorangegangenen Abschnitt geschilderte Weise auch die Radien verzweigter *Makromoleküle*

[7]) Man geht bei diesen Rechnungen am zweckmäßigsten so vor, daß man nur die Radien der kleinsten Moleküle direkt durch Abzählen bestimmt, während man die Radien der größeren Moleküle sukzessiv berechnet; man baut in ein bereits durchgerechnetes Molekül eine weitere Gruppe ein. Dies bedeutet bei der Rechnung, daß jeweils ein Term zu addieren ist, der dem Abstand von der neu eingebauten Gruppe zu *jeder* Gruppe des ursprünglichen Moleküls entspricht.

[8]) Der (dimensionslose) g-Faktor ist definiert als Verhältnis des quadratischen Mittelwertes des Radius des betreffenden Moleküls zum entsprechenden Wert eines unverzweigten Moleküls vom gleichen Molekulargewicht.

Tabelle 3

Vergleich der gem. Gl. [12] berechneten g-Faktoren mit den von *Zimm* und *Stockmayer* (4) berechneten (g')

		g-Faktor	
		g	g'
	$9a_1^2+12a_2^2+12a_3^2+12a_4^2$	$\frac{117}{165}$	$\frac{117}{165}$
	$9a_1^2+12a_2^2+12a_3^2+8a_4^2+4a_5^2$	$\frac{363}{495}$	$\frac{361}{495}$
	$11a_1^2+15a_2^2+16a_3^2+16a_4^2+8a_5^2$	$\frac{772}{1144}$	$\frac{766}{1144}$
	$11a_1^2+15a_2^2+16a_3^2+12a_4^2+8a_5^2+4a_6^2$	$\frac{402}{572}$	$\frac{399}{572}$

berechnen. Der Rechenaufwand steigt jedoch mit der Molekülgröße rasch an, da – wie Gl. [6a] zeigt – bei einem Molekül, das aus N-Einheiten besteht, $\approx \frac{N^2}{2}$ Terme zu addieren sind. Es ist jedoch möglich, ein verzweigtes Makromolekül formal in bestimmte lineare Ketten zu zerlegen, den reduzierten

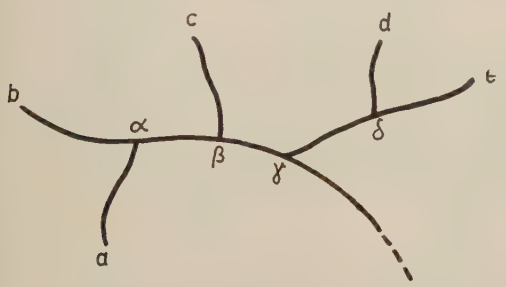


Abb. 3. Bezeichnung der Kettenendpunkte und der Verzweigungspunkte eines Makromoleküls

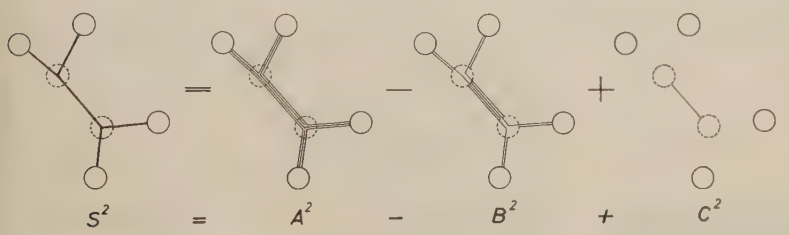


Abb. 4. Anschauliche Interpretation der Gl. [17]

Radius dieser Ketten gemäß Gl. [15] bzw. [16] zu berechnen und mittels einer einfachen Beziehung (s. u.) den reduzierten Radius und damit (s. Gl. [7]) auch den Radius des gesamten Moleküls zu bestimmen.

Wir betrachten dazu (s. Abb. 3) ein beliebig verzweigtes Molekül (ohne Ringbildung), das n Endgruppen hat, die wir durch lateinische Buchstaben kennzeichnen. Dieses Molekül hat dann $(n-2)$ Verzweigungspunkte[9]), die wir durch griechische Buchstaben kennzeichnen wollen. Für den reduzierten Radius (s. Gl. [7]) erhält man dann folgende Beziehung[2]):

$$S^2 = \sum_i \sum_{j>i} \Lambda_{ij}^2 - \sum_i \sum_\mu \Lambda_{i\mu}^2 + \sum_\mu \sum_{\nu>\mu} \Lambda_{\mu\nu}^2 = A^2 - B^2 + C^2. \quad [17]$$

Hierbei ist Λ_{ij}^2 der reduzierte Radius einer linearen Kette, die der Kette zwischen den Endpunkten i und j des betreffenden Moleküls entspricht. $\Lambda_{i\mu}^2$ ist der reduzierte Radius einer Kette, die von der Endgruppe i zu einem Verzweigungspunkte μ geht, und $\Lambda_{\mu\nu}^2$ ist der reduzierte Radius des Kettenstückes zwischen den Verzweigungspunkten

Abb. 5. Zur Berechnung der Änderung des reduzierten Radius einer linearen Kette a–b beim Anbau einer weiteren Gruppe b'

μ und ν. Eine anschauliche Deutung der einzelnen Terme der Gl. [17] wird in Abb. 4 gegeben.

Den Radius des Moleküls selbst erhält man, indem man für alle Λ^2 die durch Gl. [15] (Segmentmodell) bzw. Gl. [16] (Valenzwinkelkette) gegebenen Ausdrücke in Gl. [17] einsetzt, sämtliche Ausdrücke addiert und mit a_1^2/N^2 multipliziert.

Die Richtigkeit der Gl. [17] läßt sich durch einen Schluß von N auf $N+1$ beweisen. Man verfährt dabei zweckmäßig so, daß man in ein vorgegebenes Molekül eine weitere Gruppe einbaut und die dadurch bedingte Änderung des reduzierten Radius bestimmt. Beim Einbau einer Gruppe sind grundsätzlich drei Fälle möglich:

1. Einbau an einer *Endgruppe* einer *linearen* Kette.
2. Einbau an einer *Kette* eines unverzweigten oder verzweigten Moleküls.
3. Einbau an einer *Endgruppe* eines *verzweigten* Moleküls.

Zu 1: Verlängert man eine m-gliedrige lineare Kette um ein Glied, so erhält man aus Gl. [17] durch Differenzbildung (vgl. Abb. 5)

$$\Delta S^2 = \Lambda_{ab'}^2 - \Lambda_{ab}^2 . \quad [18]$$

Hieraus folgt mittels Gl. [14]

$$\Delta S^2 = \sum_{i=1}^{m} (m-i)\, A_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} (m-1-i)\, A_i^2 = A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + \ldots + A_{m-1}^2 . \quad [18a]$$

[9]) Gehen von einem Verzweigungspunkt nicht drei, sondern ν Ketten aus, so ist dieser Verzweigungspunkt $(\nu-2)$-fach zu zählen.

Tabelle 4

Beispiel zur Berechnung des Radius eines Moleküls vom Polymerisationsgrad $N = 101$

	a	b	c	d	e	f	α	β	γ
b	{50}	—	—	—	—	—	—	—	—
c	{50}	{20}	—	—	—	—	—	—	—
d	{60}	{50}	{50}	—	—	—	—	—	—
e	{45}	{35}	{35}	{25}	—	—	—	—	—
f	{15}	{45}	{45}	{55}	{40}	—	—	—	—
α	—{10}	—{40}	—{40}	—{50}	—{35}	— {5}	—	—	—
β	—{30}	—{20}	—{20}	—{30}	—{15}	—{25}	{20}	—	—
γ	—{40}	—{10}	—{10}	—{40}	—{25}	—{35}	{30}	{10}	—
δ	—{40}	—{30}	—{30}	—{20}	— {5}	—{35}	{30}	{10}	{20}

Dieser Ausdruck ist gleich dem, den man erhält, wenn man ΔS^2 unmittelbar durch Abzählen bestimmt (vgl. Fußnote 7).

Zu 2: Baut man eine neue Gruppe an eine unverzweigte oder verzweigte Kette an (vgl Abb. 6), so entsteht ein Verzweigungspunkt λ und eine eingliedrige Seitenkette l neu. Aus Gl. [17] erhält man in diesem Fall

$$\Delta S^2 = \sum_j \Lambda_{lj}{}^2 - \sum_\mu \Lambda_{l\mu}{}^2 - \sum_j \Lambda_{j\lambda}{}^2 + \sum_\mu \Lambda_{\mu\lambda}{}^2 . \quad [19]$$

(Bei Einbau in eine *lineare* Kette ist der zweite und der vierte Term gleich Null.) Für Gl. [19] kann man schreiben

$$\Delta S^2 = \sum_j (\Lambda_{lj}{}^2 - \Lambda_{j\lambda}{}^2) - \sum_\mu (\Lambda_{l\mu}{}^2 - \Lambda_{\mu\lambda}{}^2) . \quad [19a]$$

Die erste Summe enthält alle Terme, die man erhalten würde, wenn man an n linearen Molekülen, die von dem Verzweigungspunkt λ ausgehen und an den Endgruppen j enden, je eine Gruppe hinzufügen würde.

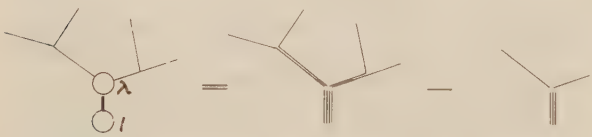


Abb. 6. Zur Berechnung der Änderung des reduzierten Radius einer verzweigten Kette beim Anbau einer Gruppe l am Punkt λ der Kette

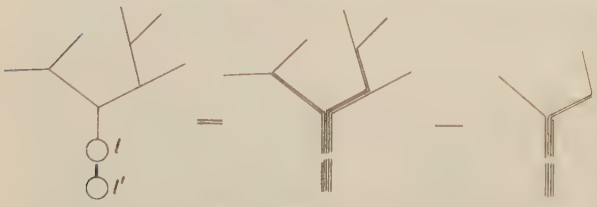


Abb. 7. Zur Berechnung der Änderung des reduzierten Radius einer verzweigten Kette beim Anbau einer Gruppe l' am Ende einer Seitenkette l

Im Vergleich zum tatsächlichen Molekül werden also die Beiträge bis zu den Verzweigungspunkten mehrfach gezählt. Der zweite Summenausdruck, der subtrahiert wird, enthält gerade diese Beiträge.

Zu 3: Fügt man an eine Endgruppe eine weitere Gruppe an (s. Abb. 7), so erhält man durch Differenzbildung

$$\Delta S^2 = \left(\sum_j \Lambda_{l'j}{}^2 - \sum_\mu \Lambda_{l'\mu}{}^2\right) - \left(\sum_j \Lambda_{lj}{}^2 - \sum_\mu \Lambda_{l\mu}{}^2\right) \quad [20]$$

bzw.

$$\Delta S^2 = \sum_j (\Lambda_{l'j}{}^2 - \Lambda_{lj}{}^2) - \sum_\mu (\Lambda_{l'\mu}{}^2 - \Lambda_{l\mu}{}^2) . \quad [20a]$$

Die erste Summe entspricht ebenso wie im Fall 2 der Zunahme beim Einbau je einer Gruppe an einem Ende von $(n - 1)$ linearen Molekülen; der zweite Term enthält den hiervon zu subtrahierenden Beitrag für die mehrfach gezählten Beiträge bis zu den Verzweigungspunkten.

Durch die drei hier geschilderten Prozesse kann man grundsätzlich jedes beliebige verzweigte Molekül (ohne Ringbildung) sukzessiv aufbauen. Da Gl. [17] für jeden einzelnen Prozeß gilt, muß sie – wie zu beweisen war – auch für das gesamte Molekül gelten.

Die Berechnung des Radius unter Benutzung des Modells der Valenzwinkelkette ist mühsamer als unter Benutzung des Segmentmodells, da Gl. [16] mehr Terme enthält als Gl. [15]. Durch folgende Überlegung ist es möglich, den Radius einer verzweigten Valenzwinkelkette aus dem Radius im Segmentmodell näherungsweise zu berechnen:

Aus Gl. [13] ersieht man, daß der erste Term dieser Gleichung bei der Summierung (gemäß Gl. [12]) $2 S_S{}^2$ ergibt; der dritte Term ergibt wegen Gl. [6a] $-\frac{3}{4} Z (Z + 1)$. Beim zweiten Term liefern nur die ersten Glieder und insbesondere *das* erste Glied einen merklichen Beitrag. Man kann deshalb generell für alle n_i den Wert für $n_1 = Z$ setzen und erhält damit für den zweiten Term, wenn man die Summe formal zu einer unendlichen Reihe ergänzt, $\frac{3}{4} Z$. Damit folgt schließlich

$$S_V{}^2 \approx 2 S_S{}^2 + \frac{3}{4} Z - \frac{3}{4} Z (Z + 1) = 2 S_S{}^2 - \frac{3}{4} Z^2 . \quad [21]$$

Als Beispiel soll abschließend der Radius des in Abb. 8 dargestellten Moleküls vom Polymerisationsgrad 101 berechnet werden. Die Rechnung erfolgt zweckmäßig an Hand des in Tab. 4 dargestellten Schemas. Mit $\{Z_i\}$ bezeichnen wir den durch Gl. [14] gegebenen Ausdruck für den reduzierten Radius einer linearen Kette mit Z_i-Bindungen. Die

Zahl der Bindungen erhält man an Hand der Abb. 8 durch Addition der zwischen den einzelnen Punkten liegenden Bindungen. Die Addition der einzelnen Terme gemäß Gl. [17] ergibt

$$S^2 = -2\{5\} - 1\{10\} - 1\{25\} - 2\{30\} - 1\{35\} - 4\{40\} + 3\{45\} + 3\{50\} + 1\{55\} + 1\{60\}. \quad [22]$$

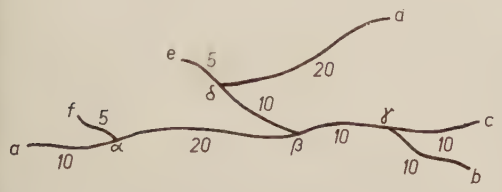


Abb. 8. Beispiel eines verzweigten Moleküls vom Polymerisationsgrad $N = 101$

Eine Kontrolle dieser Rechnung ist wie folgt möglich: Gemäß Gl. [6a] muß S^2 insgesamt $\frac{1}{2}Z(Z+1)$ Terme enthalten. Jeder der auf der rechten Seite dieser Gleichung stehenden Ausdrücke $\{Z_i\}$ entspricht gemäß Gl. [6a] in Verbindung mit Gl. [14] $\frac{1}{2}Z_i(Z_i+1)$ Termen. Die Addition aller Terme der rechten Seite (unter Berücksichtigung der Vorzeichen) muß damit ebenfalls $\frac{1}{2}Z(Z+1)$ Terme ergeben.

Berechnet man die reduzierten Radien $\{Z_i\}$ gemäß Gl. [15] bzw. [16], so erhält man aus Gl. [22] für den reduzierten Radius des Gesamtmoleküls $S_S^2 = 115200$ bzw. $S_V^2 = 222901$[10]). Für die Radien selbst ergibt sich damit

$$R_S^2 = \frac{115200}{101^2} a_1^2 = 11{,}293\, a_1^2$$

bzw.

$$R_V^2 = \frac{222901}{101^2} a_1^2 = 21{,}851\, a_1^2 .$$

Die reduzierten Radien einer linearen Kette aus $N = 101$ Gliedern ergeben sich zu $\Lambda_S^2 = 171700$ bzw. $\Lambda_V^2 = 335900$. Damit erhält man für die g-Faktoren[8]) $g_S = 0{,}6709$ bzw. $g_V = 0{,}6636$.

[10]) Mittels Gl. [21] erhält man in sehr guter Übereinstimmung $S_V^2 = 222900$.

Zusammenfassung

Der Radius kleiner verzweigter Moleküle läßt sich durch Abzählen der verschiedenen zwischen den Atomen vorhandenen Abstände und Multiplikation mit den entsprechenden quadratischen Mittelwerten der Abstände berechnen. Nach dieser Methode werden die Radien der Paraffine bis zu den Oktanen unter Benutzung des Segmentmodells und des Modelles der Valenzwinkelkette berechnet.

Es wird gezeigt, daß es möglich ist, verzweigte Makromoleküle formal in bestimmte lineare Ketten zu zerlegen, deren Radien leicht zu berechnen sind. Hieraus läßt sich der Radius des gesamten Moleküls mittels einer einfachen Beziehung bestimmen. Die Methode wird an Hand eines Beispiels erläutert.

Schrifttum

1) *Altenburg, K.*, Vortrag auf der Physiker-Tagung, Wiesbaden 1960, Phys. Verhandlg. **11**, 160 (1960).
2) *Altenburg, K.*, Z. Elektrochem. (im Druck).
3) *Debye, P.*, J. Chem. Phys. **14**, 636 (1946).
4) *Zimm, B.* und *W. Stockmayer*, J. Chem. Phys. **17**, 1301 (1949).
5) *Zimm, B.* und *R. Kilb*, J. Polymer Sci. **37**, 19 (1959).
6) *Taylor, W. J.*, J. Chem. Phys. **16**, 257 (1948).
7) *Eyring, H.*, Phys. Rev. **39**, 746 (1932).

Aus dem Institut für Kunststoffe der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Die Einführung statistischer Segmente im Rahmen der Theorie des mechanischen und dielektrischen Relaxationsverhaltens von Makromolekülen in verdünnten Lösungen

Von Siegfried Kästner

Mit 4 Abbildungen in 7 Einzeldarstellungen

(Eingegangen am 5. Dezember 1960)

1. Einleitung

Auf den grundlegenden Untersuchungen von *Kirkwood* (1–3), *Kirkwood* und *Fuoss* (4), *Hammerle* und *Kirkwood* (5) sowie *Erpenbeck* und *Kirkwood* (6) aufbauend, wurden in einer vorangegangenen Arbeit (7) die allgemeinen Grundgleichungen des mechanischen und dielektrischen Relaxationsverhaltens hochpolymerer Lösungen abgeleitet.

Dabei wird das aus N Atomen bestehende Makromolekül beliebiger chemischer Struktur und beliebigen Verzweigungsgrades unter Vernachlässigung von Deformations- und Valenzschwingungen durch ein Modell ersetzt, das aus $K \leq N$ Kugeln besteht, wobei die geometrische Struktur des Makromoleküls streng nachgebildet wird. Die zugehörigen K Kraftgleichungen werden zunächst als eine Vektorgleichung im $3K$-dimensionalen vollständigen Konfigurationsraum gedeutet und anschließend unter Einführung eines geeigneten Koordinatensystems in den F-dimensionalen eigentlichen Konfigurationsraum projiziert, wobei F die Zahl der Frei-

heitsgrade eines isolierten Makromoleküls ist. Wird die Kraftgleichung in die Kontinuitätsgleichung eingesetzt, so kommt man zur Diffusionsgleichung, durch welche die Wahrscheinlichkeitsdichte im eigentlichen Konfigurationsraum bestimmt ist. Die größten mathematischen Schwierigkeiten bereitet dabei die Berechnung des Diffusionstensors $\tilde{\boldsymbol{D}}$, da hierzu die Inversion des F-dimensionalen Reibungstensors $\tilde{\boldsymbol{R}}$ erforderlich ist, wobei der $3K$-dimensionale Reibungstensor $\boldsymbol{R}$ wiederum erst durch Inversion des primär vorgegebenen Beweglichkeitstensors $\boldsymbol{B}$ gewonnen werden kann. Wird die Diffusionsgleichung gelöst, so lassen sich die komplexe Viskosität und die komplexe Polarisation der hochpolymeren Lösung in einfacher Weise berechnen.

Damit sind die Grundgleichungen des mechanischen und dielektrischen Relaxationsverhaltens von Makromolekülen in Lösungen angegeben. Im allgemeinen treten bei der exakten Lösung der Diffusionsgleichung jedoch weitere mathematische Probleme auf. Für die praktische Durchführung der Rechnung ist es deshalb notwendig, von weiteren physikalischen Vereinfachungen bzw. mathematischen Näherungen Gebrauch zu machen. Dabei bewährt sich besonders die Einführung des *statistischen Segmentmodells* in Verbindung mit einer Mittelwertbildung des Beweglichkeitstensors bzw. in weiterer Näherung in Verbindung mit der Annahme des frei durchspülten Knäuels. In diesem Fall braucht nämlich die Wahrscheinlichkeitsdichte f nicht explizit berechnet zu werden, da die in der komplexen Viskosität und der komplexen Polarisation maßgebenden Größen durch geeignete Mittelwertbildung der Kraftgleichungen direkt bestimmt werden können. Es wird also in dem vorliegenden Fall die Diffusionsgleichung nicht benötigt. Man erhält damit für das statistische Segmentmodell anstelle einer partiellen Differentialgleichung ein System von gewöhnlichen linearen Gleichungen, das nach bekannten Methoden gelöst werden kann. Dabei sei darauf hingewiesen, daß sich die Einführung des statistischen Segmentmodells nicht nur im Rahmen der Theorie verdünnter Lösungen bewährt, sondern auch zur Deutung des mechanischen Relaxationsverhaltens von festen Stoffen, die durch Netzwerkstrukturen dargestellt werden, herangezogen werden kann.

Spezialfälle des hier behandelten allgemeinen statistischen Segmentmodells wurden bereits in einer Reihe Arbeiten behandelt. Dabei wurde jedoch die hier angegebene einfache Lösungsmethode bisher noch nicht angewendet. So haben sich mit dem mechanischen Relaxationsverhalten von Lösungen linearer Kettenmoleküle einheitlicher chemischer Struktur *Kargin* und *Slonimskij* (8), *Rouse* (9), *Bueche* (10) und *Zimm* (11) befaßt, während die entsprechenden dielektrischen Eigenschaften *Zimm* (11) sowie *van Beek* und *Hermans* (12) behandelt haben. Andererseits wurde die komplexe Viskosität verzweigter Kettenmoleküle von *Zimm* und *Kilb* (13) sowie von zweidimensionalen Netzwerken als Modell konzentrierter Lösungen von *Takemura* (14) berechnet. Schließlich haben das mechanische Relaxationsverhalten von Netzwerkstrukturen *Gottlieb* und *Wolkenstein* (14a), *Nakada* (15), *Zimm* (11) und *Mooney* (16) untersucht. Dabei wurde nur in den Arbeiten von *Zimm* (11) sowie von *Zimm* und *Kilb* (13) neben dem frei durchspülten Knäuel auch das teilweise durchspülte Knäuel behandelt.

Am Schluß der Arbeit wird kurz auf den Spezialfall linearer Kettenmoleküle einheitlicher chemischer Struktur eingegangen werden. Dabei wird hinsichtlich der dielektrischen Relaxation für das Modell, das *van Beek* und *Hermans* eingeführt haben, erstmalig die hydrodynamische Wechselwirkung berücksichtigt. Ein neues statistisches Segmentmodell zur Darstellung der dielektrischen Eigenschaften von Kettenmolekülen mit seitständigen Dipolgruppen wird in einer anschließenden Arbeit diskutiert werden.

Auf Fragen der *inneren Viskosität* eines statistischen Segments, die *Kuhn* (17), *Cerf* (18) sowie *van Beek* und *Hermans* (12) eingeführt haben, soll im folgenden nicht eingegangen werden.

2. Das statistische Segmentmodell

Wir vereinfachen das in (7) angegebene Valenzwinkelmodell des Makromoleküls im folgenden in der Weise, daß wir entsprechend Abb. 1 die Reibungswirkung von M Kugeln

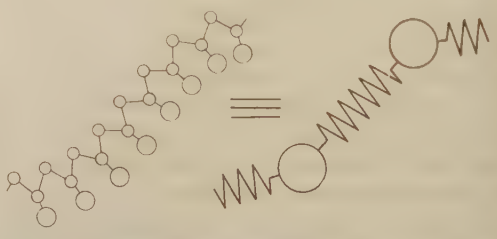


Abb. 1. Die Darstellung eines Kettenabschnitts durch ein statistisches Segment

eines bestimmten Kettenabschnitts in einer Ersatzkugel der Reibungskonstanten a' zusammenfassen. Benachbarte Ersatzkugeln werden durch eine ideale Feder verbunden, so daß eine vom Abstand dieser Kugeln linear abhängige Rückstellkraft auftritt. Auf Grund der Wärmebewegung der Makromoleküle werden diese Federn gespannt, wobei sich zwischen benachbarten Kugeln ein mittlerer Abstand b' einstellt[1]). Dabei können die Winkel zwischen den Achsen der in einer Ersatzkugel zusammentreffenden Federn jeden beliebigen Wert annehmen.

Zur Darstellung dielektrischer Eigenschaften wird ein Teil der Ersatzkugeln bzw. jede Ersatzkugel mit einer Ladung q versehen, wobei die Ladungen der einzelnen Ersatzkugeln so gewählt werden, daß das statistische Segmentmodell des als ganzes elektrisch neutralen Makromoleküls auch neutral ist.

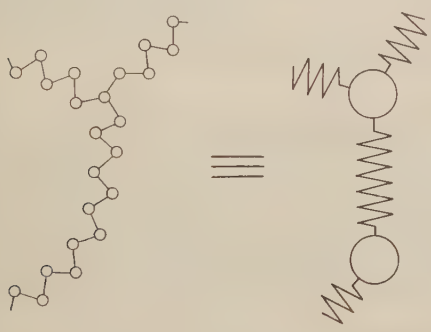


Abb. 2. Die Darstellung von Verzweigungen im statistischen Segmentmodell

Die chemische Struktur des betreffenden Kettenabschnitts kommt bei dieser Näherung nur noch in den Reibungskonstanten und Ladungen der Ersatzkugeln sowie in der mittleren Länge der Federn zum Ausdruck. Dagegen können auftretende Verzweigungen durch dieses statistische Segmentmodell entsprechend Abb. 2 noch streng nachgebildet werden. Besitzen sämtliche Kettenabschnitte des Makromoleküls einheitliche chemische Struktur, so wird man sämtliche Reibungskonstanten und die Beträge der Ladungen sowie die Segmentlängen untereinander gleichsetzen, im allgemeinen muß man jedoch berücksichtigen, daß diese Größen für die einzelnen Kugeln und Federn auch verschiedene Werte besitzen können.

Das Segmentmodell besteht also ganz allgemein aus $L < K$ Kugeln mit den Reibungskonstanten a'_α und den Ladungen q_α, die durch mindestens $L - 1$ Federn der mittleren Länge $b'_{\alpha\beta}$ verbunden sind, wobei der Minimalwert $L - 1$ auftritt, falls keine Ringbildungen vorhanden sind. Dabei können die griechischen Indizes α, β, ... im folgenden die Werte 1 bis L annehmen. Es treten keine Zwangsbedingungen auf. Das statistische Segmentmodell besitzt deshalb

$$F = 3\,L \qquad [2,1]$$

Freiheitsgrade. Der vollständige und der eigentliche Konfigurationsraum sind also beim statistischen Segmentmodell identisch. Wir werden deshalb zunächst die Lage der Kugeln durch ihre kartesischen Koordinaten x^α, y^α, z^α kennzeichnen. Soweit ein Wechsel des Koordinatensystems notwendig ist, werden wir außerdem im folgenden nur homogene lineare Transformationen der speziellen Form

$$x^\alpha = \underset{\beta}{c^\alpha}\,\bar{x}^\beta\,, \quad y^\alpha = \underset{\beta}{c^\alpha}\,\bar{y}^\beta\,, \quad z^\alpha = \underset{\beta}{c^\alpha}\,\bar{z}^\beta \qquad [2,2]$$

betrachten. Die Koordinaten x^α, y^α, z^α transformieren sich dabei nach den Regeln des allgemeinen Tensorkalküls (19) wie kontravariante Vektoren in einem L-dimensionalen Raum und die Ladungen q_α wie ein kovarianter Vektor.

Für die innere potentielle Energie U folgt aus den obigen Annahmen ganz allgemein ein Zusammenhang

$$U = \frac{1}{2}\,U_{\alpha\beta}\,(x^\alpha\,x^\beta + y^\alpha\,y^\beta + z^\alpha\,z^\beta)\,, \qquad [2,3]$$

wobei die Matrix $U_{\alpha\beta}$ symmetrisch gebaut ist

$$U_{\alpha\beta} = U_{\beta\alpha} \qquad [2,4]$$

und sich im Rahmen der speziellen Transformation [2,2] wie ein kovarianter Tensor transformiert. Die in Gl. [2,3] auftretenden quadratischen Formen sind positiv definit bzw. semidefinit.

3. Die Ausgangsgleichungen

Wir gehen von der in (7) angegebenen Beziehung für die komplexe Viskosität [10,10] aus, die mit der Abkürzung

$$dv = \sqrt{g}\,dx^1 \cdots dx^L\,dy^1 \cdots dy^L\,dz^1 \cdots dz^L \qquad [3,1]$$

die Form

$$\eta = \eta_0 + \frac{\nu}{\gamma^2}\int F_{x\alpha}\,v_{0x}{}^\alpha\,f\,dv \quad ^2) \qquad [3,2]$$

besitzt. Dabei ist η_0 die Viskosität des reinen Lösungsmittels, ν die Teilchendichte der

[1]) Genauer gesagt ist b'^2 der Mittelwert des Abstandsquadrats.

[2]) Zum Unterschied zu den Ausgangsgleichungen wurden in den Beziehungen [3,2] und [3,5] anstelle der komplexen Amplituden $\hat{F}_{x\alpha}$, $\hat{v}_{0x}{}^\alpha$, $\hat{f}_1$ und der Wahrscheinlichkeitsdichten f_0, f_1 die ursprünglichen Größen $F_{x\alpha}$, $v_{0x}{}^\alpha$, f_1 und f sowie die Abkürzung $\gamma = \beta\,e^{j\omega t}$ eingeführt.

Makromoleküle, γ die komplexe Amplitude des Strömungsgefälles der Flüssigkeit, $F_{x\alpha}$ die x-Komponente der auf die Kugel α wirkenden Reibungskraft, $v_{0x}{}^{\alpha}$ die x-Komponente der Geschwindigkeit der Flüssigkeit am Ort dieser Kugel und f die Wahrscheinlichkeitsdichte im Konfigurationsraum. Führen wir die entsprechenden Mittelwerte ein, so geht die Gl. [3,2] in die Beziehung

$$\eta = \eta_0 + \frac{\nu}{\gamma^2} \langle F_{x\alpha}\, v_{0x}{}^{\alpha} \rangle \qquad [3,3]$$

über.

Um die entsprechende Formel für die komplexe Polarisation angeben zu können, muß man zunächst vom Dipolmoment m_z des statistischen Segmentmodells ausgehen, das unter Verwendung der Ladungen q_α die Form

$$m_z = q_\alpha\, z^\alpha \qquad [3,4]$$

besitzt. Aus Gl. [11,2] von (7) gewinnt man damit für die komplexe Polarisation die Beziehung

$$P = \nu \int q_\alpha\, z^\alpha\, f\, dv\, e^{-j\omega t}\,, \quad {}^{2}) \qquad [3,5]$$

die nach Einführung der Mittelwerte die Formel

$$P = \nu\, q_\alpha \langle z^\alpha \rangle\, e^{-j\omega t} \qquad [3,6]$$

ergibt.

Zur Bestimmung der komplexen Viskosität und der komplexen Polarisation genügt es also, die in den Gleichungen [3,3] und [3,6] auftretenden Mittelwerte zu kennen. Wie im folgenden gezeigt wird, lassen sich diese Größen aus den Kraftgleichungen ermitteln, ohne daß die Wahrscheinlichkeitsdichte f explizit berechnet wird.

4. Die Mittelwertbildung des Beweglichkeitstensors

Es wird angenommen, daß der Beweglichkeitstensor $\boldsymbol{B}$ nur wenig von seinem auf die Gleichgewichts-Wahrscheinlichkeitsdichte f_0 bezogenen Mittelwert $\boldsymbol{b}$ abweicht. Wir können deshalb in den folgenden Rechnungen den Beweglichkeitstensor $\boldsymbol{B}$ durch den entsprechenden Mittelwert

$$\boldsymbol{b} = \langle \boldsymbol{B} \rangle_0 = \int \boldsymbol{B}\, f_0\, dv \qquad [4,1]$$

ersetzen. Dabei folgt zunächst unmittelbar, daß die Komponenten des daraus gewonnenen Reibungstensors $\boldsymbol{R}$ konstante Größen sind. Weiterhin ergibt sich jedoch der wichtige Zusammenhang, daß der Reibungstensor – wie der Energietensor $\boldsymbol{U}$ – einen Stufentensor darstellt.

$$\| F_{kl} \| = \left\| \begin{array}{ccc} R_{\alpha\beta} & 0 & 0 \\ 0 & R_{\alpha\beta} & 0 \\ 0 & 0 & R_{\alpha\beta} \end{array} \right\| \qquad [4,2]$$

Für die weitere Rechnung ist außerdem von Bedeutung, daß für den Reibungstensor $R_{\alpha\beta}$ die Symmetriebeziehung

$$R_{\alpha\beta} = R_{\beta\alpha} \qquad [4,3]$$

besteht und daß die zugehörige quadratische Form D

$$D = \frac{1}{2}\, R_{\alpha\beta}\, u^\alpha\, u^\beta \qquad [4,4]$$

stets positiv definit ist.

Für den Spezialfall des frei durchspülten Knäuels ist die obige Annahme nicht erforderlich, da dann der Beweglichkeitstensor bereits konstante Komponenten besitzt und in Stufenform vorliegt.

5. Die Kraftgleichungen

Auf Grund der im letzten Abschnitt behandelten Näherungsannahme zerfällt die Kraftgleichung [4,11] von (7) nach Einführung der Formel [6,18] von (7) für den vorliegenden Fall in drei Beziehungen[3]).

$$f\,[R_{\alpha\beta}\,(\gamma\, y^\beta - u_x{}^\beta) - U_{\alpha\beta}\, x^\beta] - kT\,\frac{\partial f}{\partial x^\alpha} = 0 \qquad [5,1]$$

$$f\,[-R_{\alpha\beta}\, u_y{}^\beta - U_{\alpha\beta}\, y^\beta] - kT\,\frac{\partial f}{\partial y^\alpha} = 0 \qquad [5,2]$$

$$f\,[-R_{\alpha\beta}\, u_z{}^\beta + q_\alpha\, E - U_{\alpha\beta}\, z^\beta] - kT\,\frac{\partial f}{\partial z^\alpha} = 0 \qquad [5,3]$$

Dabei sind $u_x{}^\alpha, u_y{}^\alpha, u_z{}^\alpha$ die Komponenten der Geschwindigkeit der Kugel α, außerdem tritt die *Boltzmann*sche Konstante k und die absolute Temperatur T auf. Weiterhin wurde neben der in Gl. [2,3] angegebenen inneren potentiellen Energie das vorgegebene Strömungsfeld

$$v_{0x}{}^\alpha = \gamma\, y^\alpha \quad v_{0y}{}^\alpha = v_{0z}{}^\alpha = 0 \quad \gamma = \beta\, e^{j\omega t} \qquad [5,4]$$

und das Kraftfeld

$$K_{x\alpha} = K_{y\alpha} = 0 \quad K_{z\alpha} = q_\alpha E \quad E = E_0\, e^{j\omega t} \qquad [5,5]$$

eingesetzt, wobei E das lokale elektrische Feld bezeichnet. Für die Kraftgleichung [5,1] wollen wir im folgenden noch die Form

$$f\,[F_{x\alpha} - U_{\alpha\beta}\, x^\beta] - kT\,\frac{\partial f}{\partial x^\alpha} = 0 \qquad [5,6]$$

verwenden.

[3]) Zum Unterschied zu den Ausgangsgleichungen wurde hierbei der Faktor f hinzugefügt.

Wir führen nun entsprechend der Transformation [2,2] ein neues Koordinatensystem $\bar{x}^\alpha$, $\bar{y}^\alpha$, $\bar{z}^\alpha$ ein. Dabei fordern wir, daß die Tensoren $U_{\alpha\beta}$, $R_{\alpha\beta}$ in Diagonalform $\bar{U}_{\alpha\alpha}$, $\bar{R}_{\alpha\alpha}$ übergehen, was sich durch geeignete Wahl der Transformation [2,2] stets verwirklichen läßt. Dabei sind die Komponenten $\bar{U}_{\alpha\alpha}$, $\bar{R}_{\alpha\alpha}$, soweit sie von Null verschieden sind, stets positiv.

Anstelle der Beziehungen [5,1] bis [5,3] bzw. der Gl. [5,6] erhalten wir damit die Formeln

$$\bar{f}\left[\bar{R}_{(\alpha\alpha)}\left(\gamma\,\bar{y}^\alpha - \bar{u}_x{}^\alpha\right) - \bar{U}_{(\alpha\alpha)}\,\bar{x}^\alpha\right] - kT\,\frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{x}^\alpha} = 0 \qquad [5,7]$$

$$\bar{f}\left[-\bar{R}_{(\alpha\alpha)}\,\bar{u}_y{}^\alpha - \bar{U}_{(\alpha\alpha)}\,\bar{y}^\alpha\right] - kT\,\frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{y}^\alpha} = 0 \qquad [5,8]$$

$$\bar{f}\left[-\bar{R}_{(\alpha\alpha)}\,\bar{u}_z{}^\alpha + \bar{q}_\alpha E - \bar{U}_{(\alpha\alpha)}\,\bar{z}^\alpha\right] - kT\,\frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{z}^\alpha} = 0 \qquad [5,9]$$

bzw. das Ergebnis

$$\bar{f}\left[-\bar{F}_{x\alpha} - U_{(\alpha\alpha)}\,\bar{x}^\alpha\right] - kT\,\frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{x}^\alpha} = 0\,, \qquad [5,10]$$

wobei die Klammern an den Indizes andeuten, daß hierbei keine Summation durchgeführt werden muß.

Im folgenden sollen die zur Berechnung der komplexen Viskosität und der komplexen Polarisation benötigten Mittelwerte aus den Kraftgleichungen gewonnen werden. Dazu sollen zunächst die Hilfsformeln

$$\frac{d}{dt}\,\langle \bar{z}^\alpha \rangle = \langle \bar{u}_z{}^\alpha \rangle \qquad [5,11]$$

$$\frac{d}{dt}\,\langle \bar{x}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle = \langle \bar{u}_x{}^\alpha\,\bar{y}^\alpha + \bar{u}_y{}^\alpha\,\bar{x}^\alpha \rangle \qquad [5,12]$$

und

$$\frac{d}{dt}\,\langle \bar{y}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle = 2\,\langle \bar{u}_y{}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle \qquad [5,13]$$

angegeben werden, die sich unter Verwendung der Kontinuitätsgleichung in einfacher Weise durch partielle Integration beweisen lassen. Dazu ist allerdings erforderlich, daß die Wahrscheinlichkeitsdichte f am Rande des Konfigurationsraumes verschwindet. Dies ist jedoch stets erfüllt, wenn f im Schwerpunktsraum nur innerhalb eines endlichen Bereichs von Null verschieden ist. Man erreicht es durch einen außerhalb dieses Bereichs eingeführten Zusatzterm in der potentiellen inneren Energie, woraus dort $\bar{f} = 0$ folgt, während die bisher angegebenen Formeln nur innerhalb des Bereichs gelten.

6. Die Hauptachsentransformation

Die symmetrischen kovarianten Tensoren $U_{\alpha\beta}$ und $R_{\alpha\beta}$ müssen gleichzeitig auf Hauptachsen transformiert werden. Davon ist nur der Energietensor $U_{\alpha\beta}$ direkt vorgegeben, während der Reibungstensor $R_{\alpha\beta}$ erst durch Inversion des Beweglichkeitstensors $b^{\alpha\beta}$ gewonnen wird. Wir betrachten deshalb im folgenden unter Verallgemeinerung der von *Zimm* (11) durchgeführten Rechnungen anstelle dieser beiden kovarianten Tensoren einen gemischten Tensor $T^\alpha{}_\beta$, der durch skalare Multiplikation des Beweglichkeitstensors $b^{\alpha\beta}$ mit dem Energietensor $U_{\alpha\beta}$ gewonnen wird:

$$T^\alpha{}_\beta = b^{\alpha\gamma}\,U_{\gamma\beta}\,. \qquad [6,1]$$

Es läßt sich nämlich zeigen, daß die Hauptachsentransformation des Tensors $T^\alpha{}_\beta$ auch gleichzeitig den Energietensor $U_{\alpha\beta}$ und den Beweglichkeitstensor $b^{\alpha\beta}$ und damit auch den Reibungstensor $R_{\alpha\beta}$ in Hauptachsenform bringt. Dazu ist lediglich erforderlich, daß sämtliche Komponenten von $\bar{T}^\alpha{}_{(\alpha)}$ voneinander verschieden sind. Zum Beweis gehen wir von den Identitäten

$$U_{\alpha\beta}\,b^{\beta\gamma}\,U_{\gamma\delta} = U_{\alpha\beta}\,T^\beta{}_\delta = U_{\delta\gamma}\,T^\gamma{}_\alpha \qquad [6,2]$$

$$b^{\alpha\beta}\,U_{\beta\gamma}\,b^{\gamma\delta} = b^{\alpha\beta}\,T^\delta{}_\beta = b^{\delta\gamma}\,T^\alpha{}_\gamma \qquad [6,3]$$

aus, die im Hauptachsenkoordinatensystem auf die Formeln

$$\bar{U}_{\alpha\delta}\left(\bar{T}^\alpha{}_{(\alpha)} - \bar{T}^\delta{}_{(\delta)}\right) = 0 \qquad [6,4]$$

$$\bar{b}^{\alpha\delta}\left(\bar{T}^\alpha{}_{(\alpha)} - \bar{T}^\delta{}_{(\delta)}\right) = 0 \qquad [6,5]$$

führen. Setzen wir nun

$$\bar{T}^\alpha{}_{(\alpha)} \neq \bar{T}^\beta{}_{(\beta)} \quad \alpha \neq \beta\,, \qquad [6,6]$$

so folgt daraus unmittelbar das gewünschte Ergebnis:

$$\bar{U}_{\alpha\beta} = 0 \quad \bar{b}^{\alpha\beta} = 0 \quad \alpha \neq \beta\,. \qquad [6,7]$$

7. Die Berechnung der komplexen Viskosität

Zur Berechnung der komplexen Viskosität benötigt man die Formeln [5,7], [5,8] und [5,10]. Davon wird zunächst die Gl. [5,10] mit $\bar{v}_{0x}{}^\alpha$ multipliziert und über den Konfigurationsraum integriert, wobei sich die Beziehung

$$\langle \bar{F}_{x(\alpha)}\,\bar{v}_{0x}{}^\alpha \rangle = \gamma\,\bar{U}_{(\alpha\alpha)}\,\langle \bar{x}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle \qquad [7,1]$$

ergibt. Andererseits führt eine entsprechende Multiplikation von Gl. [5,7] mit $\bar{y}^\alpha$ und von Gl. [5,8] mit $\bar{x}^\alpha$ nach Integration und Verwendung von Formel [5,12] auf das Ergebnis

$$2\,\bar{U}_{(\alpha\alpha)}\,\langle \bar{x}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle + \bar{R}_{(\alpha\alpha)}\,\frac{d}{dt}\,\langle \bar{x}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle = \gamma\,\bar{R}_{(\alpha\alpha)}\,\langle \bar{y}^\alpha\,\bar{y}^\alpha \rangle\,. \qquad [7,2]$$

Schließlich gewinnt man durch Multiplikation der Gl. [5,8] mit $\bar{y}^\alpha$ nach Integration

unter Beachtung der Formel [5,13] den Zusammenhang

$$\bar{U}_{(\alpha\alpha)} \langle \bar{y}^{\alpha} \bar{y}^{\alpha} \rangle + \frac{1}{2} \bar{F}_{(\alpha\alpha)} \langle \bar{y}^{\alpha} \bar{y}^{\alpha} \rangle = kT \,. \qquad [7,3]$$

Damit sind die für die Berechnung der komplexen Viskosität maßgebenden Beziehungen abgeleitet. Da wir uns nur für rein periodische Vorgänge interessieren, erhält man nach Einsetzen von Gl. [7,1] bzw. [7,2] in die Formel [7,2] bzw. [7,3] unter Einführung der stets positiven *Relaxationszeiten* τ_α

$$\tau_\alpha = \frac{\bar{F}_{\alpha\alpha}}{2\,\bar{U}_{\alpha\alpha}} = \frac{1}{2\,\bar{T}^{\alpha}_{(\alpha)}} \qquad [7,4]$$

die Beziehung

$$\langle \bar{F}_{x(\alpha)}\, v_{0x^{\alpha}} \rangle = \frac{\gamma^2\, kT\, \tau_\alpha}{1 + j\,\omega\,\tau_\alpha} \,. \qquad [7,5]$$

Beachtet man weiterhin die Identität

$$\langle \bar{F}_{x\alpha}\, \bar{v}_{0x^{\alpha}} \rangle = \langle F_{x\alpha}\, v_{0x^{\alpha}} \rangle \,, \qquad [7,6]$$

so ergibt sich schließlich für die komplexe Viskosität das einfache Ergebnis

$$\eta = \eta_0 + \nu\, kT \sum_{\alpha=2}^{L} \frac{\tau_\alpha}{1 + j\,\omega\,\tau_\alpha} \,, \qquad [7,7]$$

in dem als maßgebende Konstanten nur die Relaxationszeiten τ_α auftreten. Dabei ist zu beachten, daß die Summe nur von 2 bis L läuft, da die zur Schwerpunktskoordinate $\bar{x}^1$ gehörige Komponente des Energietensors $\bar{U}_{11}$ stets Null ist, weil die innere potentielle Energie natürlich nicht von den Schwerpunktskoordinaten abhängt. Außerdem sei darauf hingewiesen, daß die Beziehung [7,7] für beliebig große Werte von γ streng gültig ist. Daraus kann man entnehmen, daß das statistische Segmentmodell zur Beschreibung einer vom Strömungsgefälle abhängigen komplexen Viskosität nicht geeignet ist.

Für den komplexen Schermodul G

$$G = j\,\omega\,\eta \qquad [7,8]$$

gewinnt man aus der Formel [7,7] den Zusammenhang

$$G = j\,\omega\,\eta_0 + \nu\, kT \sum_{\alpha=2}^{L} \frac{j\,\omega\,\tau_\alpha}{1 + j\,\omega\,\tau_\alpha} \,. \qquad [7,9]$$

8. Die Berechnung der komplexen Polarisation

Zur Bestimmung der komplexen Polarisation wird nur die Gl. [5,9] benötigt. Sie geht nach Integration unter Beachtung von Gl. [5,11] in die Beziehung

$$\bar{U}_{(\alpha\alpha)} \langle \bar{z}^{\alpha} \rangle + \bar{R}_{(\alpha\alpha)} \frac{d}{dt} \langle \bar{z}^{\alpha} \rangle = \bar{q}_\alpha\, E \qquad [8,1]$$

über. Daraus erhält man das Ergebnis

$$\langle \bar{z}^{\alpha} \rangle = \frac{\bar{q}_\alpha\, E}{\bar{U}_{\alpha\alpha}} \frac{1}{1 + j\,\omega\,2\,\tau_\alpha} \,, \qquad [8,2]$$

das unter Beachtung der Transformationsformeln [2,2] schließlich für die komplexe Polarisation P den Zusammenhang

$$P = \nu\, E_0 \sum_{\alpha=2}^{L} \frac{A_\alpha}{1 + j\,\omega\,2\,\tau_\alpha} \qquad [8,3]$$

ergibt, wobei die Faktoren A_α durch die Beziehung

$$A_\alpha = \frac{1}{\bar{U}_{\alpha\alpha}} \left(\underline{c}^{\beta}_{\alpha}\, q_\beta \right)^2 \qquad [8,4]$$

bestimmt sind. Dabei läuft die Summe wie im mechanischen Fall nur von 2 bis L, da $\bar{q}_1$ Null ist, weil das statistische Segmentmodell elektrisch neutral ist. Die Formel [8,3] gilt für beliebige Werte von E_0, im statistischen Segmentmodell kommt also die bei hohen Feldstärken zu erwartende Sättigung der komplexen Polarisation nicht zum Ausdruck.

Durch Vergleich der Formel [8,3] mit der Beziehung [7,7] bzw. [7,9] erkennt man, daß bei der komplexen Polarisation die auftretenden Relaxationszeiten doppelt so groß sind wie bei der komplexen Viskosität bzw. beim komplexen Schermodul. Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, daß es sich vom Standpunkt der phänomenologischen Relaxationstheorie (20, 21) aus gesehen bei der komplexen Polarisation um Deformationsrelaxation (= Retardation) handelt, während beim komplexen Schermodul Kraftrelaxation (= Relaxation im engeren Sinne) auftritt.

Wir wollen an dieser Stelle noch auf den Spezialfall eingehen, daß der Dipolmomentsvektor eines Makromoleküls proportional zum Abstandsvektor der Enden der Hauptkette ist. Dabei erhalten im statistischen Segmentmodell nur die Endkugeln der Hauptkette – die durch die Ziffern 1 und L gekennzeichnet seien – eine positive bzw. negative Ladung q. In diesem Fall tritt anstelle des Faktors A_α der Faktor A'_α auf.

$$A'_\alpha = \frac{q^2}{\bar{U}_{\alpha\alpha}} \left(\underline{c}^{1}_{\alpha} - \underline{c}^{L}_{\alpha} \right)^2 \,. \qquad [8,5]$$

9. Die Berechnung der komplexen Youngschen Nachgiebigkeit einer Netzwerkstruktur

Der im Rahmen der Bestimmung der komplexen Polarisation behandelte Spezialfall hängt eng mit der linearen Näherung des mechanischen Relaxationsverhaltens einer

Netzwerkstruktur zusammen, worauf kurz eingegangen werden soll. Dabei bildet das aus L Kugeln bestehende Segmentmodell entsprechend Abb. 3 den zwischen zwei Vernetzungspunkten auftretenden Teil des Netzwerks mit Einschluß dieser Vernetzungspunkte, die im statistischen Segmentmodell die Ziffern 1 und L tragen sollen.

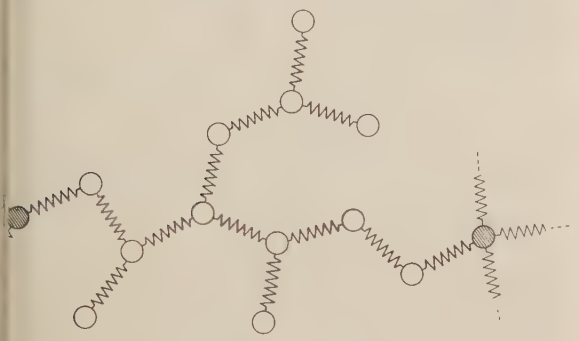


Abb. 3. Der zwischen zwei Vernetzungspunkten auftretende Teil einer Netzwerkstruktur

Wird an das entsprechende Material eine Zugspannung σ_z angelegt, so tritt an den Vernetzungspunkten eine Kraft K_z bzw. $-K_z$ auf, die eine Dehnung des statistischen Segmentmodells zur Folge hat. Für die komplexe *Young*sche Nachgiebigkeit F erhält man dabei den einfachen Zusammenhang

$$F = \frac{\langle z^L - z^1\rangle - \langle z^L - z^1\rangle_0}{n\, K_z \langle z^L - z^1\rangle_0^2}, \qquad [9,1]$$

wobei n die Dichte der Vernetzungspunkte bezeichnet. Die zugehörige Grundgleichung lautet entsprechend Formel [5,3]

$$f[-R_{\alpha\beta} u_z^\beta + K_\alpha - U_{\alpha\beta} z^\beta + D_\alpha] - kT \frac{\partial f}{\partial z^\alpha} = 0 \qquad [9,2]$$

mit

$$\begin{array}{lll} K_\alpha = -K_z & D_\alpha = -D & \alpha = 1 \\ K_\alpha = 0 & D_\alpha = 0 & \alpha = 2, \cdots, L-1 \\ K_\alpha = K_z & D_\alpha = D & \alpha = L, \end{array} \qquad [9,3]$$

wobei D_α aus einem durch die Netzwerkstruktur bedingten zusätzlichen Term der inneren potentiellen Energie U'

$$U' = -d\,[(x^L - x^1)\cos\alpha_1 + (y^L - y^1)\cos\alpha_2 + (z^L - z^1)\cos\alpha_3] \qquad [9,4]$$

mit der Abkürzung

$$D = d\cos\alpha_3 \qquad [9,5]$$

folgt und α_1, α_2, α_3 die Winkel des Endpunktabstandsvektors des betrachteten Netzwerkteils gegenüber den Koordinatenachsen sind. In dem Hauptachsensystem geht die Beziehung [9,2] in die Form

$$f[-\bar{R}_{(\alpha\alpha)} \bar{u}_z^\alpha + \bar{K}_\alpha - \bar{U}_{(\alpha\alpha)} \bar{z}^\alpha + \bar{D}_\alpha] - kT \frac{\partial \bar{f}}{\partial \bar{z}^\alpha} = 0 \qquad [9,6]$$

über, woraus nach Integration über den Konfigurationsraum die Lösung

$$\langle \bar{z}^\alpha \rangle = \langle \bar{z}^\alpha \rangle_0 + \frac{\bar{K}_\alpha}{\bar{U}_{\alpha\alpha}(1 + j\,\omega\, 2\,\tau_\alpha)} \qquad [9,7]$$

folgt. Man erhält nach Rücktransformation auf die in Gl. [9,1] auftretenden ungestrichenen Koordinaten für die komplexe *Young*sche Nachgiebigkeit das Ergebnis

$$F = \frac{1}{n\langle z^L - z^1\rangle_0^2} \sum_{\alpha=2}^{L} \frac{B_\alpha}{1 + j\,\omega\, 2\,\tau_\alpha} \qquad [9,8]$$

mit den Faktoren

$$B_\alpha = \frac{1}{\bar{U}_{\alpha\alpha}} \left(c_\alpha^L - c_\alpha^1\right)^2 . \qquad [9,9]$$

Dabei läuft die Summe wieder nur von 2 bis L, da die am Schwerpunkt angreifende Kraft K_1 Null ist. Es zeigt sich, daß man für die komplexe *Young*sche Nachgiebigkeit einer Netzwerkstruktur das gleiche Relaxationsspektrum erhält, wie es sich bei der dielektrischen Relaxation eines Makromoleküls in Lösung ergab, dessen Dipolmomentsvektor proportional zum Abstandsvektor der Enden der Hauptkette ist.

10. Die lineare Kette einheitlicher chemischer Struktur

Zur Erläuterung des bisher angegebenen mathematischen Formalismus soll im folgenden ein einfaches Beispiel behandelt werden. Dabei betrachten wir eine lineare Kette einheitlicher chemischer Struktur, deren statistisches Segmentmodell entsprechend Abb. 4

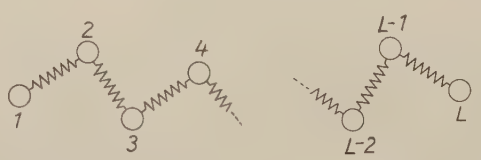


Abb. 4. Das statistische Segmentmodell einer linearen Kette einheitlicher chemischer Struktur

aus L Kugeln der Reibungskonstante $a'_\alpha = a$ besteht, die durch $L-1$ Federn der mittleren Länge $b'_{\alpha\beta} = b$ verbunden sind. Zur Darstellung der dielektrischen Eigenschaften werden die Kugeln abwechselnd mit einer positiven und einer negativen Ladung von gleichem Betrag q versehen, wobei L ganz-

zahlig sein muß, damit das gesamte statistische Segmentmodell elektrisch neutral ist. Andererseits werden wir für den Spezialfall, daß der Dipolmomentsvektor des entsprechenden Kettenmoleküls proportional dem Abstandsvektor der Endpunkte ist, nur die erste und letzte Kugel der Kette mit einer positiven bzw. negativen Ladung q versehen. Für die innere potentielle Energie besteht in dem vorliegenden Beispiel der einfache Zusammenhang

$$U = \frac{3\,kT}{2\,b^2} \sum_{\alpha=2}^{L} [(x^\alpha - x^{\alpha-1})^2 + (y^\alpha - y^{\alpha-1})^2 + (z^\alpha - z^{\alpha-1})^2], \quad [10{,}1]$$

in dem als maßgebende Größe nur die mittlere Länge der Federn b auftritt. Daraus folgt für den Energietensor $U_{\alpha\beta}$ die Darstellung

$$\| U_{\alpha\beta} \| = \frac{3\,kT}{b^2} \begin{Vmatrix} 1 & -1 & & & \\ -1 & 2 & -1 & 0 & \\ & \ddots & \ddots & \ddots & \\ & 0 & -1 & 2 & -1 \\ & & & -1 & 1 \end{Vmatrix}, \quad [10{,}2]$$

der man entnehmen kann, daß in diesem Fall in der zugehörigen Matrix nur in der Hauptdiagonale und den benachbarten Parallelen von Null verschiedene Elemente auftreten.

11. Das frei durchspülte Knäuel

Wir betrachten zunächst den Fall des frei durchspülten Knäuels. Hierbei wird der Reibungstensor $R_{\alpha\beta}$ unter Verwendung des *Kronecker*-Tensors $\delta_{\alpha\beta}$

$$\delta_{\alpha\beta} = \begin{cases} 1 & \alpha = \beta \\ 0 & \alpha \neq \beta \end{cases} \quad [11{,}1]$$

durch die einfache Beziehung

$$R_{\alpha\beta} = a\,\delta_{\alpha\beta} \quad [11{,}2]$$

dargestellt, in der die Reibungskonstante a auftritt. Hinsichtlich der Transformation [2,2] bedeutet diese Vereinfachung, daß wir zusätzlich fordern können, daß es sich in diesem Fall um eine orthogonale Transformation handelt. Unter Verwendung der Theorie der Eigenschwingungen einer Massenpunktfederkette (22) erhalten wir dabei für die Tensorkomponenten $\bar{U}_{\alpha\alpha}$ bzw. $\bar{R}_{\alpha\alpha}$ die einfache Lösung

$$\bar{U}_{\alpha\alpha} = \frac{12\,kT}{b^2} \sin^2 \frac{(\alpha-1)\,\pi}{2\,L} \quad [11{,}3]$$

bzw.

$$\bar{R}_{\alpha\alpha} = a\,, \quad [11{,}4]$$

während die Transformationskoeffizienten c_{β}^{α} durch die Formel

$$c_{\beta}^{\alpha} = \begin{cases} \dfrac{1}{\sqrt{L}} & \beta = 1 \\ \sqrt{\dfrac{2}{L}} \cos \dfrac{(\alpha - \frac{1}{2})\,(\beta-1)\,\pi}{L} & \beta = 2, \cdots, L \end{cases} \quad [11{,}5]$$

bestimmt werden. Für die Relaxationszeiten τ_α ergibt sich dabei entsprechend Gl. [7,4] der Zusammenhang

$$\tau_\alpha = \frac{a\,b^2}{24\,kT \sin^2 \dfrac{(\alpha-1)\,\pi}{2\,L}} \quad \alpha = 2, \cdots, L, \quad [11{,}6]$$

wobei für große Werte von L für die kleinste Relaxationszeit τ_L bzw. die größte Relaxationszeit τ_2 die Beziehung

$$\tau_L = \frac{a\,b^2}{24\,kT} \quad [11{,}7]$$

bzw.

$$\tau_2 = \frac{a\,b^2\,L^2}{6\,kT\,\pi^2} \quad [11{,}8]$$

auftritt. Andererseits erhalten wir für den durch die Gl. [8,4] bzw. [8,5] bestimmten Faktor A_α bzw. A'_α das Ergebnis

$$A_\alpha = \begin{cases} \dfrac{2\,\mu^2}{3\,L\,kT \sin^2 \dfrac{(\alpha-1)\,\pi}{L}} & \alpha = \text{gerade} \\ 0 & \alpha = \text{ungerade} \end{cases} \quad [11{,}9]$$

bzw.

$$A'_\alpha = \begin{cases} \dfrac{2\,\mu^2}{3\,L\,kT} \operatorname{ctg}^2 \dfrac{(\alpha-1)\,\pi}{2\,L} & \alpha = \text{gerade} \\ 0 & \alpha = \text{ungerade} \end{cases}, \quad [11{,}10]$$

wobei das mittlere Quadrat des Dipolmoments eines statistischen Segments μ^2

$$\mu^2 = q^2\,b^2 \quad [11{,}11]$$

eingeführt wurde. Daraus gewinnt man schließlich für die komplexe Viskosität, die komplexe Polarisation und die komplexe *Young*sche Nachgiebigkeit die Beziehungen

$$\eta = \eta_0 + \nu\,kT \sum_{\alpha=2}^{L} \frac{\tau_\alpha}{1 + j\,\omega\,\tau_\alpha} \quad [11{,}12]$$

$$P = \frac{2\,\nu\,\mu^2\,E_0}{3\,L\,kT} \sum_{\alpha=\text{gerade}}^{L} \frac{1}{\sin^2 \dfrac{(\alpha-1)\,\pi}{L}} \frac{1}{1 + j\,\omega\,2\,\tau_\alpha} \quad [11{,}13]$$

$$P = \frac{2\,\nu\,\mu^2\,E_0}{3\,L\,kT} \sum_{\alpha=\text{gerade}}^{L-1\,\text{bzw.}\,L} \operatorname{ctg}^2 \frac{(\alpha-1)\,\pi}{2\,L} \frac{1}{1 + j\,\omega\,2\,\tau_\alpha} \quad [11{,}14]$$

$$F = \frac{2\,b^2}{3\,L\,kT\,n\,\langle zL - z^1 \rangle_0^2} \sum_{\alpha=\text{gerade}}^{L-1\,\text{bzw.}\,L} \operatorname{ctg}^2 \frac{(\alpha-1)\,\pi}{2\,L} \frac{1}{1 + j\,\omega\,2\,\tau}$$

Dabei ist in der Gl. [11,14] der vorn erwähnte Spezialfall dargestellt, daß der Dipolmomentsvektor eines Kettenmoleküls proportional zum Abstandsvektor der Enden der Kette ist.

Die Formeln [11,12] bis [11,15] sind in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Rouse* (9), *Bueche* (10), *Gottlieb* und *Wolkenstein* (14a), *Nakada* (15)[4]), *Zimm* (11) sowie *van Beek* und *Hermans* (12). Beim Vergleich ist allerdings zu beachten, daß *Bueche* und *Zimm* bei der Hauptachsentransformation zusätzliche Näherungen eingeführt haben, wodurch die kleinen Relaxationszeiten um den Faktor $\frac{1}{4}\pi^2$ zu klein angegeben werden.

12. Das teilweise durchspülte Knäuel

Im Fall des teilweise durchspülten Knäuels wird hinsichtlich des Beweglichkeitstensors $b^{\alpha\beta}$ die in Abschnitt 4 behandelte Mittelwertbildung durchgeführt, wobei man nach *Kirkwood* und *Riseman* (23) mit der Abkürzung

$$c = \frac{1}{\eta_0 b \sqrt{6\pi^3}} \qquad [12,1]$$

das Ergebnis

$$b^{\alpha\beta} = \begin{cases} \dfrac{1}{a} & \alpha = \beta \\ \dfrac{c}{\sqrt{|\alpha - \beta|}} & \alpha \neq \beta \end{cases} \qquad [12,2]$$

erhält, während der Energietensor $U_{\alpha\beta}$ nach wie vor durch die Formel [10,2] bestimmt ist.

Die Hauptachsentransformation des zugehörigen Tensors $T^{\alpha}{}_{\beta}$ ist kompliziert. Man kann jedoch in einfacher Weise eine brauchbare Näherungslösung gewinnen, indem man auch beim teilweise durchspülten Knäuel die im Fall des frei durchspülten Knäuels gewonnenen Transformationskoeffizienten [11,5] verwendet. Damit ergeben sich auch für die Komponenten des Energietensors $\bar{U}_{\alpha\alpha}$ die gleichen Werte, während die Diagonalelemente des Beweglichkeitstensors $\bar{b}^{\alpha\alpha}$ in die Form

$$\bar{b}^{\alpha\alpha} = \frac{1}{a} + \frac{c}{\pi}\sqrt{\frac{2L}{(\alpha-1)^3}}$$
$$\{2\pi(\alpha-1)\,C[\pi(\alpha-1)] - S[\pi(\alpha-1)]\} \qquad [12,3]$$

übergehen, wobei die *Fresnel*-Integrale[5])

$$S(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_0^x \frac{\sin u}{\sqrt{u}}\,du \quad C(x) \frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_0^x \frac{\cos u}{\sqrt{u}}\,du \qquad [12,4]$$

eingeführt wurden. Im einzelnen ergibt sich, daß die Formeln [11,12] bis [11,15] in erster Näherung auch für den Fall des teilweise durchspülten Knäuels gültig sind, wenn lediglich für die Relaxationszeiten τ_α die Werte $\tilde{\tau}_\alpha$

$$\tilde{\tau}_\alpha = \frac{1}{2\,\bar{U}_{\alpha\alpha}\,\bar{b}^{(\alpha\alpha)}} \qquad [12,5]$$

eingesetzt werden. Für die kleinste bzw. größte auftretende Relaxationszeit $\tilde{\tau}_L$ bzw. $\tilde{\tau}_2$ gewinnt man dabei für große Werte von L die Formel

$$\tilde{\tau}_L = \frac{\sqrt{3\pi^3}\,b^3\,\eta_0}{24\,kT\left(1 + \dfrac{\sqrt{3\pi}}{6}\dfrac{b}{r}\right)} \qquad [12,6]$$

bzw.

$$\tilde{\tau}_2 = \frac{\sqrt{3\pi L^3}\,b^3\,\eta_0}{2{,}6 \cdot 6\,kT}\,, \quad [6]) \qquad [12,7]$$

wobei der durch die Beziehung

$$a = 6\pi\eta_0 r \qquad [12,8]$$

definierte hydrodynamische Radius r einer Kugel eingeführt wurde. Außerdem sei das Verhältnis $\tilde{\tau}_L/\tau_L$ angegeben.

$$\tilde{\tau}_L/\tau_L = \frac{1}{1 + \dfrac{6r}{\sqrt{3\pi}\,b}}\,. \qquad [12,9]$$

Die Formel [12,5] steht in Verbindung mit den Beziehungen [11,12], [11,14] und [11,15] in Übereinstimmung mit Rechnungen von *Zimm*. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß *Zimm* zusätzliche Näherungen eingeführt hat, wodurch die bei kleinen Relaxationszeiten auftretende Abhängigkeit von r nicht zum Ausdruck kommt und zum anderen – wie beim Fall des frei durchspülten Knäuels – die kleinen Relaxationszeiten um den Faktor $\frac{1}{4}\pi^2$ zu klein angegeben werden. Andererseits hat *Zimm* jedoch für große Relaxationszeiten genauere Werte berechnet, die allerdings von den hier angegebenen Werten nur maximal 1,5% abweichen.

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß der in Formel [11,13] dargestellte Fall der dielektrischen Relaxation für ein teilweise durchspültes Knäuel bisher noch nicht behandelt wurde. Die hier mitgeteilten Ergebnisse zeigen – im Gegensatz zu den Angaben von *van Beek* und *Hermans* –, daß auch im Fall der dielektrischen Relaxation die hydrodynamische Wechselwirkung eine Rolle spielt. Dabei ergibt sich allerdings, daß das von ihnen diskutierte Hochfrequenzgebiet

[4]) In der Arbeit von *Nakada* ist offenbar ein Rechenfehler enthalten.

[5]) Die *Fresnel*-Integrale sind in [24] vertafelt.

[6]) Der Faktor 2,6 ergibt sich durch Abrundung von $A = 2\pi C(\pi) - S(\pi)$.

der dielektrischen Relaxation auch bei Berücksichtigung der hydrodynamischen Wechselwirkung unabhängig vom Polymerisationsgrad ist.

Zusammenfassung

Es wird die allgemeine Theorie der Einführung statistischer Segmente zur Deutung des mechanischen und dielektrischen Relaxationsverhaltens von Makromolekülen beliebiger chemischer Struktur und beliebigen Verzweigungsgrades in verdünnten Lösungen behandelt. Die entsprechenden Grundgleichungen werden aufgestellt und gelöst. Die Ergebnisse werden in einfacher Weise durch Mittelwertbildung der Kraftgleichungen gewonnen, ohne daß die Wahrscheinlichkeitsdichte explizit berechnet werden muß, wobei auch die Diffusionsgleichung nicht explizit aufgestellt zu werden braucht.

Als Anwendungsbeispiel wird der Spezialfall eines linearen Kettenmoleküls einheitlicher chemischer Struktur diskutiert. Dabei wird hinsichtlich der dielektrischen Relaxation für das von *van Beek* und *Hermans* angegebene statistische Segmentmodell erstmalig der Einfluß der hydrodynamischen Wechselwirkung untersucht.

Schrifttum

1) *Kirkwood, J. G.*, J. Chem. Phys. **14**, 51 (1946).
2) *Kirkwood, J. G.*, Rec. trav. chim. Pays-Bas **68**, 649 (1949).
3) *Kirkwood, J. G.*, J. Polymer Sci. **12**, 1 (1954).
4) *Kirkwood, J. G.* und *R. M. Fuoss*, J. Chem. Phys. **9**, 329 (1941).
5) *Hammerle, W. G.* und *J. G. Kirkwood*, J. Chem. Phys. **23**, 1743 (1955).
6) *Erpenbeck, J. J.* und *J. G. Kirkwood*, J. Chem. Phys. **29**, 909 (1958).
7) *Kästner, S.*, Kolloid-Z. **178**, 24 (1961).
8) *Kargin, W. A.* und *G. L. Slonimskij*, Ber. Akad. Wiss. UdSSR **62**, Nr. 2, 239 (1948).
9) *Rouse, P. E.*, J. Chem. Phys. **21**, 1272 (1953).
10) *Bueche, F.*, J. Chem. Phys. **22**, 603 (1954).
11) *Zimm, B. H.*, J. Chem. Phys. **24**, 269 (1956), **24**, 279 (1956).
12) *Van Beek, L. K. H.* und *J. J. Hermans*, J. Polymer Sci. **23**, 211 (1957).
13) *Zimm, B. H.* und *R. W. Kilb*, J. Polymer Sci. **37**, 19 (1959).
14) *Takemura, T.*, J. Polymer Sci. **38**, 185 (1958).
14a) *Gottlieb, J. J.* und *M. W. Wolkenstein*, J. techn. Physik **23**, 1936 (1953).
15) *Nakada, O.*, J. Phys. Soc. Japan **10**, Nr. 9, 804 (1955).
16) *Mooney, M.*, J. Polymer Sci. **34**, 599 (1959).
17) *Kuhn, W.* und *H. Kuhn*, Helvet. chim. Acta **28**, 1533 (1945); J. Colloid Sci. **3**, 11 (1948).
18) *Cerf, R.*, Fortschr. Hochpolym.-Forschg. **1**, 382 (1959).
19) *Kästner, S.*, Vektoren, Tensoren, Spinoren (Berlin 1960).
20) *Gross, B.*, Mathematical Structure of the Theories of Viscoelasticity (Paris 1953).
21) *Kästner, S.*, Kolloid-Z. **156**, 142 (1958); **157**, 133 (1958); **157**, 144 (1958); Ann. Phys. (7) **1**, 377 (1958); **2**, 146 (1958); **3**, 82 (1959); *Kästner, S.* und *E. Schlosser*, Kolloid-Z. **152**, 116 (1957); *Schlosser, E.* und *S. Kästner*, Kolloid-Z. **155**, 97 (1957).
22) *Altenburg, K.* und *S. Kästner*, Ann. Physik (6) **13**, 1 (1953).
23) *Kirkwood, J. G.* und *J. Riseman*, J. Chem. Phys. **16**, 565 (1948).
24) *Jahnke-Emde*, Tafeln höherer Funktionen (Leipzig 1948).

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/M.

Die Wärmeaggregation von Proteinen in Lösung

Von J. Stauff, H. Barthel, R. Jaenicke, R. Krekel und E. Ühlein

Mit 6 Abbildungen und 5 Tabellen

(Eingegangen am 31. Juli 1961)

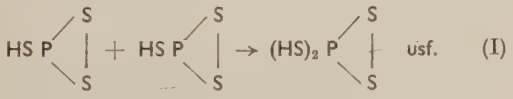
Einleitung

Die seit langem bekannten Aggregationen, zu der die meisten Proteinmoleküle in Lösung beim Erhitzen veranlaßt werden, sind nicht ohne weiteres den Vorgängen gleichzusetzen, die als Denaturierung der Proteine bezeichnet werden. Dieser Begriff wird zweckmäßigerweise nach *Kauzmann* (1) ausschließlich Veränderungen der räumlichen Konfiguration der Proteinmoleküle, also ihrer Sekundär- und Tertiärstruktur vorbehalten, die zu keinen Änderungen der Molekülgröße führen. Doch ist sicherlich beim Erwärmen von Proteinlösungen, ungeachtet etwaiger Aggregationen, mit einer Änderung der Konfiguration der nativen Moleküle zu rechnen, worauf z. B. die von *Schellmann* (2) gefundene Änderung der optischen Drehung beim Erwärmen von Rinderserumalbumin in saurer Lösung hinweist. Denaturierung – im Sinne obiger Definition – und Aggregation sollten daher von vornherein als Vorgänge angesehen werden, zwischen denen zwar Zusammenhänge bestehen, doch noch wenig Klarheit darüber herrscht, ob Denaturierung die eigentliche Ursache der Aggregation ist oder ob die Zusammenhänge weniger ursächlich sind. Es ist durchaus denkbar, daß die Aggregation durch Vorgänge ausgelöst wird, die ihrerseits wohl von der Denaturierung beeinflußt werden, diese jedoch keine unbedingt notwendige Voraussetzung für das Eintreten jener zu sein braucht.

Da die Aggregation häufig – besonders bei hoher Konzentration der Proteinlösungen – zur vollständigen Ausfällung der Substanz

führt, hat man sie als eine Koagulation angesehen, wie sie bei kolloiden Systemen häufig auftritt, wenn das System thermodynamisch instabil wird (Entmischung) oder die äußeren Hemmungen (Ladungen, Hydratation) beseitigt werden (z. B. bei der Koagulation von AgCl-Solen). Unlöslichwerden und Änderung der Ladungs- bzw. Hydrathülle könnten Folgen der Denaturierung sein. Andererseits wurde von *Huggins, Tapley* und *Jensen* (3) bei der Aggregation und Gelbildung in harnstoffhaltigen Proteinlösungen ein Einfluß Sulfhydrylgruppen blokkierender Reagenzien beobachtet. Aggregationen von Proteinen sollten demzufolge nicht nur durch Nebenvalenzkräfte (H-Brücken, Ionenbrücken, Dipolattraktionen, sogenannte „Hydrophobe Bindungen" (1), *v. d. Waals-London*sche Dispersionskräfte), sondern auch durch chemische Bindungen, insbesondere durch intermolekulare Disulfidbrücken verursacht werden können. In einer früheren Arbeit (4) wurde ebenso wie von *Bresler* und Mitarb. (5) ein solcher Mechanismus auch für die Wärmeaggregation vermutet. Einwirkung von SH-Gruppen angreifenden Reagenzien wurde auch von *Kauzmann* und *Douglas* (6) und *Steinrauf* und *Dandliker* (7) gefunden, während die Ergebnisse von *Bro* und Mitarb. (8) bei Untersuchungen im sauren Bereich eher dagegen sprechen.

Eine Aggregation nach dem Mechanismus einer Redoxreaktion wie



(I)

sollte durch Dissoziation der SH-Gruppe nach

$$-SH \rightleftarrows -S^- + H^+ \qquad \text{(II)}$$

[$p_K \sim 8{,}4$ oder kleiner (9)] im alkalischen Bereich begünstigt werden und die Geschwindigkeit des Vorgangs zu höher alkalischen Werten ansteigen. Von *Steinrauf* und *Dandliker* wurde gerade das Umgekehrte gefunden und daher ein solcher Mechanismus für unwahrscheinlich gehalten.

Wegen dieser Unklarheiten schien es zweckmäßig zu sein, die Aggregationsreaktion einer Reihe von Proteinen mit unterschiedlicher Schwefelfunktion zu untersuchen, was am einfachsten durch Verfolgung der Lichtstreuung der erwärmten Lösungen geschehen kann. Die Redoxreaktion sollte bei Proteinen, die keine SH-Gruppen besitzen, nicht auftreten, ebenso bei solchen, deren SH- und SS-Gruppen oxydiert oder deren SH-Gruppen vollständig blockiert sind. Bei nur SS-haltigen Proteinen sollte sie hingegen durch Reduktion einiger SS- zu SH-Gruppen hervorgerufen werden können.

Einwandfreie Auskünfte über Änderungen der Sekundär- und Tertiärstruktur der Proteine sind schwieriger zu erhalten, da hierfür noch keine absolut sicher auswertbare Meßmethoden zur Verfügung stehen. Aus dem Vergleich der optischen Drehung und ihrer Abhängigkeit von der Lichtwellenlänge (Rotationsdispersion) von nativen und einwandfrei denaturierten Proteinen lassen sich jedoch gewisse Schlüsse über ihre Konfiguration ziehen. Die optische Drehung allein (Erhöhung der Linksdrehung des Proteins) kann Änderungen der Gesamtkonfiguration anzeigen, insbesondere auch solche der Tertiärstruktur, was bei der Entfaltung des bei niederen p_H-Werten statistisch geknäuelten oxydierten RSA durch p_H-Erhöhung in einer früheren Arbeit (11) gezeigt werden konnte. Solche Änderungen wurden von *Schellmann* (2) bei Denaturierungsvorgängen nativer Proteine schon früher beobachtet. Nach der Theorie von *Moffitt* (12) und den Ergebnissen von *Yang* und *Doty* (13, 14) ist zudem anzunehmen, daß die Rotationsdispersion mit den zu α-Helices geordneten Bereichen der Peptidketten zusammenhängt. Die bei Gültigkeit der *Drude*schen Dispersionsgleichung [vgl. dazu *Kauzmann* (1)] maßgebliche Konstante λ_c ändert sich nach *Schellmann* bei der Harnstoffdenaturierung vieler Proteine zu kleineren Werten, was theoretisch eine Desorientierung der α-Helices bedeuten würde.

2. Untersuchungsmethodik

Die zur Verfolgung der Aggregation angewandte Methode bestand in der Bestimmung der 90°-Lichtstreuung der erwärmten Proteinlösungen, deren zeitliche Abhängigkeit in einer w. u. skizzierten Apparatur registriert werden konnte. Die Konzentration der gepufferten Proteinlösungen betrug dabei 0,1 bis 0,5 g/100 ml. Da die Dimension der streuenden Proteinmoleküle noch im *Raleigh*-Bereich ($d \ll \lambda$) der Lichtstreuung liegt, ist die Intensität des Streulichts praktisch eine eindeutige Funktion des Gewichtsmittelwertes des Partikelgewichts.

Eine gesonderte Prüfung der Winkelabhängigkeit des Streulichts in einer entsprechenden Apparatur ergab einen Asymmetriekoeffizienten von nahezu 1. Wegen des

zweiten Virialkoeffizienten in der Gleichung des osmotischen Drucks lassen sich exakte Partikelgewichtsmittelwerte nur durch Extrapolation bei verschiedener Konzentration erhalten. Die Virialkoeffizienten sind an sich schon klein und ändern sich bei der Aggregation der untersuchten Proteine oft nur wenig, so daß es für qualitative Untersuchungen der Aggregation und ihrer Geschwindigkeit genügt, die vom Meßinstrument angezeigten, der Trübung der Lösung direkt proportionalen Meßwerte als relatives Maß für das mittlere Partikelgewicht zu verwenden.

Zur unmittelbaren Beobachtung der Aggregation in der heizbaren Lichtstreuungsapparatur wurden die Lösungen in den Meßküvetten direkt erwärmt. Die dazu benötigte Zeit wurde in gesonderten Versuchen ermittelt. Sie betrug 2 bis 4 Minuten, um die Lösungen auf 1,5° unterhalb der Versuchstemperatur zu erwärmen. Die Erwärmungszeit macht sich häufig bei den durch einen Schreiber aufgezeichneten Streuwert-Zeit-Kurven durch eine Art Induktionsperiode bemerkbar (vgl. Abb. 1).

Untersucht wurden folgende Substanzen:

1. Proteine mit mehreren SH- und SS-Gruppen (β-Lactoglobulin);
2. Proteine mit (etwa) einer SH- und mehreren SS-Gruppen [Rindermercaptalbumin und RSA (0,67 SH-Gruppen)];
3. Proteine, die keine SH-Gruppe, aber SS-Gruppen enthielten (Insulin, Ribonuclease);
4. Protein, das SH- und SS-Gruppen enthält, dessen SH-Gruppe jedoch chemisch verändert wurde;
5. Protein, das nur SS-Gruppen enthält, die teilweise zu SH-Gruppen reduziert wurden[1]).

3. Experimenteller Teil

Lichtstreuungsapparatur

Die Änderung der Trübung ($\sim$ Streulichtintensität bei 90°) von erwärmten Proteinlösungen mit der Zeit wurde in einer Apparatur bestimmt, die in ihren wesentlichen Teilen von *Uhlein* und *Stauff* (15) beschrieben worden ist. Die dort verwendeten heizbaren Kupferblöcke wurden durch eine heizbare zylindrische Trommel ersetzt, die 6 Öffnungen zur Aufnahme von 6 verschiedenen Küvetten besaß. Durch Drehung der Trommel konnte jeweils 1 Küvette in den Strahlengang des Primärstrahls und die Auffangoptik des Sekundärelektronenvervielfachers gebracht werden, wodurch eine Messung des in der 90°-Richtung abgestrahlten Streulichts möglich war. Mit Hilfe einer Programmsteuerung der Trommeldrehung blieb jede Küvette etwa 1 Minute im Strahlengang ruhig stehen; innerhalb von 10 Sekunden konnte die folgende Küvette in die Meßstellung hineingedreht werden. Die den 6 Proben entsprechenden Streuintensitäten wurden als Stromstärken des Sekundärelektronenvervielfachers von einem Kompensationsschreiber (Philips) über einen längeren Zeitraum automatisch registriert. Die Trommel wurde mit Wasser aus einem Ultrathermostaten (Temperaturkonstanz $\pm$ 0,1°) beheizt.

Auf eine Kalibrierung der Apparatur für die vorzunehmenden Messungen konnte verzichtet werden, da es sich in allen Fällen um Relativmessungen handelte.

Die Reinigung der Lösungen für die Lichtstreuungsmessungen wurde durch Zentrifugierung der Proben bei etwa 15000 U/min in einer Phywe-Zentrifuge Type „Pirouette" vorgenommen.

Substanzen

Das verwendete Rinderserumalbumin (RSA) wurde von der Firma Behring-Werke, Marburg/Lahn, bezogen. Mercaptalbumin vom Rind (kristallisiert) war ein Präparat der Firma Pentex, Kankakee, Ill., Ribonuclease ein solches der Firma Armour Lab., Eastbourne. Das Zinkinsulin (kristallisiert) stammte von der Firma Farbwerke Hoechst, Frankfurt am Main-Hoechst und besaß eine Aktivität von 25,0 I. E./mg, ein anderes von der Firma Armour & Co. Ltd., Eastbourne, eine Aktivität von 23,3 I.E./mg.

Um ein zinkfreies Insulinpräparat zu gewinnen, wurde es mit einem Kationenaustauscher (Nalcite HCR) behandelt. Ein Glasrohr von 8 mm Durchmesser wurde 10 cm hoch mit Austauscher gefüllt. Es wurde durch Beladen mit gesättigter Kochsalzlösung aktiviert. 50 mg Insulin wurden in 5,5 ml n/10 HCl gelöst und danach mit 4,5 ml n/10 NaOH versetzt. Diese Lösung wurde mit einer Tropfgeschwindigkeit von 1 bis 2 Tropfen/sec durch die Austauschersäule gegeben. Der Durchlauf war leicht trüb und enthielt unter Umständen auch isoelektrisch ausgefallenes Insulin, welches leicht mit einigen Tropfen HCl wieder gelöst werden konnte. Es traten dabei Verluste von etwa 10 bis 15% des eingesetzten Insulins auf. Zur Prüfung auf Zink diente ein Ammoniakpuffer von p_H 10 mit einer 0,005 molaren Lösung des Dinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure und Eriochromschwarz T als Indikator (Nachweisgrenze 0,5 γ/ml Zn^{2+}-Lösung). Es wurden nur solche Lösungen des Insulins verwendet, die eine Zinkkonzentration von etwa der Nachweisgrenze besaßen. Die Lösungen wurden durch einfaches Auflösen der Proteinpräparate mit entsprechenden Pufferlösungen hergestellt.

Als Reagentien für die Pufferlösung wurden nur analysenreine Präparate (Merck, Darmstadt) und aus einer Quarzapparatur dreimal destilliertes Wasser verwendet.

Die Bestimmung der Konzentrationen der Proteine erfolgte entweder durch Auswägen der bei 105° im Trockenschrank eingetrockneten Lösungen oder als Routinemethode – nach Aufnahme einer Eichkurve – mit Hilfe des Brechungsindexunterschiedes gegenüber der Pufferlösung. Die p_H-Werte wurden mit einem p_H-Gerät der Firma Knick, Berlin, kontrolliert.

Bestimmung der SH-Gruppen

Der Sulfhydrylgehalt der Proteine ließ sich auf einfachste Weise nach der von *Benesch* und *Benesch* (16) angegebenen Methode durch ampèrometrische Titration mit Silbernitrat ermitteln. Als rotierende Platinelektrode wurde eine solche verwendet, die ein gebogenes

[1]) Über ein Protein (RSA), dessen SH- und SS-Gruppen vollständig oxydiert oder reduziert und carboxymethyliert wurden, soll in einer besonderen Arbeit berichtet werden. (Vgl. die nachfolgende Arbeit von *Jaenicke* und *Stauff* S. 143).

8 mm breites Platinblech besaß. Als Grundelektrolyt diente eine Lösung von Trimethylolaminomethan (Tris), die mit Salpetersäure auf einen p_H-Wert von 7 gebracht wurde. Die Lösung war etwa 0,5 molar, von ihr wurden jeweils 5 ml auf 20 ml Proteinlösung zugegeben. Titrationskurven wurden direkt mit einem Polarographen der Firma Sargent aufgenommen.

Blockierung der SH-Gruppen

Eine Blockierung der SH-Gruppe des RSA mit Jodacetamid und Jodacetat gelang in der Kälte nicht. Benzochinon und N-Äthylmaleinimid führten beim RSA zu einem Präparat, in dem sich durch Titration keine SH-Gruppen mehr nachweisen ließen. Um Präparate mit blockierter SH-Gruppe darzustellen, wurden 1 bis 1,5%ige Lösungen des RSA bei Zimmertemperatur mit dem gleichen Volumen einer etwa 10^{-3} molaren Chinonlösung oder einer gesättigten Maleinimidlösung versetzt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurden die Lösungen 24 bis 36 Stunden bei 4 °C dialysiert, wobei die Außenflüssigkeit (ca. 2 l gegenüber 20 bis 30 ml Proteinlösung) 3 bis 4mal gewechselt wurde. Die so gewonnenen Lösungen wurden dann zur Gleichgewichtseinstellung gegen den betreffenden Puffer dialysiert, in welchem sie untersucht werden sollten.

Optische Drehung und Dispersion der Drehung

Zur Bestimmung der optischen Drehung und deren Dispersion wurde ein lichtelektrisches Polarimeter der Firma Zeiss, Oberkochen, mit einer Anzeigegenauigkeit von 0,005° verwendet. Die Drehung wurde jeweils mit den Wellenlängen 578, 546, 436, 405 und 365 mμ bestimmt.

4. Ergebnisse

a) Allgemeines Verhalten

Beim Einbringen einer gepufferten Proteinlösung von Zimmertemperatur in den auf Temperaturen oberhalb 60° vorgeheizten Block der Lichtstreuungsapparatur beobachtet man ein Ansteigen der Intensitäten des Streulichts S in einer Weise, wie sie in Abb. 1 dargestellt ist. Nach Überwindung der Störungen, die zu Beginn des Versuches durch die Temperatureinstellung verursacht werden, nimmt S in den meisten Fällen stetig zu. Die Zunahme wird mit der Zeit geringer, erreicht aber – außer beim Insulin – keinen konstanten Endwert. Zwischen den einzelnen Proteinen bestehen deutlich erkennbare Unterschiede. Manche besitzen Induktionsperioden, andere wieder nicht.

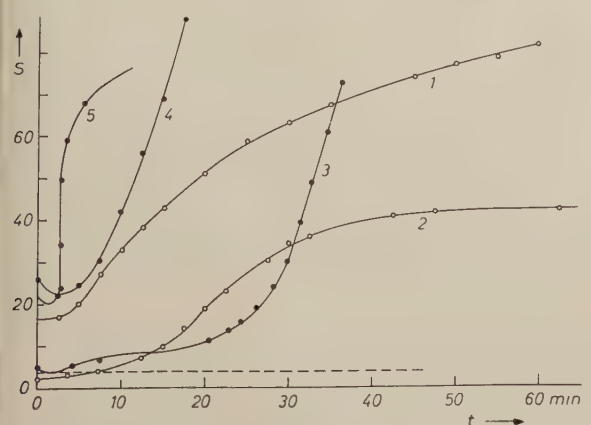


Abb. 1. Abhängigkeit der 90°-Lichtstreuung (S in relativem Maßstab) verschiedener Proteine von der Zeit beim Erwärmen auf 70 °C. 1 Rinderserumalbumin, p_H 7, 2 Insulin, p_H 8, 3 β-Lactoglobulin, p_H 6,5, 4 γ-Globulin (Rind), p_H 6,5, 5 Chrymotrypsinogen p_H 6

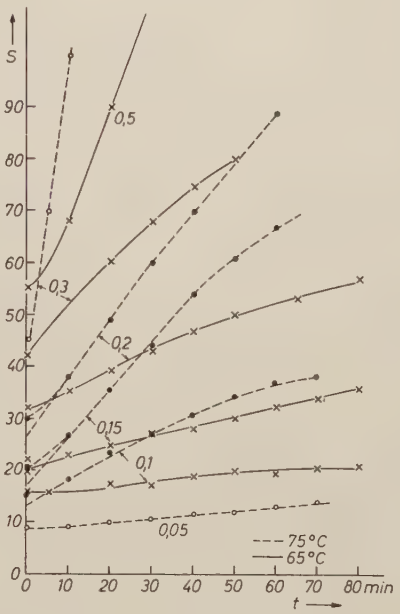


Abb. 2. S (90°-Lichtstreuung) von Rinderserumalbuminlösungen verschiedener Konzentrationen (p_H 7,0, $\mu = 0{,}1$) in Abhängigkeit von der Zeit bei 65° und 75°. (Die Zahlen bedeuten Konzentration in g/100 ml Lösung)

Vermischt man eine konzentrierte RSA-Lösung von Zimmertemperatur mit einer berechneten Menge heißer Pufferlösung und bestimmt S sofort nach der Vermischung, so tritt keine Induktionsperiode auf. Beim β-Lactoglobulin ist jedoch immer auch bei diesem Verfahren ein anfänglicher Abfall zu beobachten.

Die Neigung der Kurven entspricht der Aggregationsgeschwindigkeit dS/dt. Bei den vorzunehmenden Betrachtungen genügt die Angabe von dS/dt in relativem Maßstab.

In allen bisher untersuchten Fällen nimmt dS/dt mit dem Quadrat der Proteinkonzentration zu. Das gleiche gilt für die Abhängigkeit von der Temperatur bis zu etwa 85 bis 90°, wonach in manchen Fällen wieder eine Abnahme auftreten kann [vgl. Abb. (10)]. Komplizierter ist die Abhängigkeit vom p_H und der Ionenstärke der Lösung.

b) Rinderserumalbumin (RSA)

Da das RSA kein einheitliches Protein ist, wurde das daraus abtrennbare Mercaptalbumin auf sein Verhalten beim Erwärmen untersucht. Qualitativ und quantitativ konnte kein wesentlicher Unterschied gegenüber dem RSA gefunden werden; die S,t-Kurven beider Proteine lassen sich praktisch zur Deckung bringen. Aus diesem Grunde wurden die weiteren Versuche mit RSA gemacht.

Für das Verhalten des nativen RSA ist die Abhängigkeit von dS/dt vom p_H charakteristisch, die auf Abb. 3 dargestellt ist (RSA: Punkte). dS/dt steigt in der Nähe des isoelektrischen Punktes außerordentlich stark an. Im alkalischen Bereich ist die Aggregationsgeschwindigkeit gegen p_H-Änderungen nicht sehr empfindlich, doch ist ein kleiner Anstieg zu hohen p_H-Werten erkennbar.

Zur Überprüfung der eingangs besprochenen Vorstellung über die Beteiligung von SH- und SS-Gruppen am Aggregationsmechanismus wurden nun einige Versuche mit einem RSA gemacht, dessen SH-Gruppen vor oder während des Versuchs mit SH-Reagentien behandelt wurden. Die in der Tabelle 1 aufgeführten Substanzen wurden in dem entsprechenden Puffer gelöst und der Proteinlösung während oder vor der Aggregation zugegeben. Eine Änderung des Reaktionsverhaltens ließ sich unmittelbar aus der S,t-Kurve feststellen. Vollständige Hemmung der Aggregation ließ S zeitlich konstant werden. Ebenso machten sich beschleunigende oder verzögernde Wirkung durch Änderung von dS/dt bemerkbar. In den meisten Fällen läßt sich eine deutliche Ein-

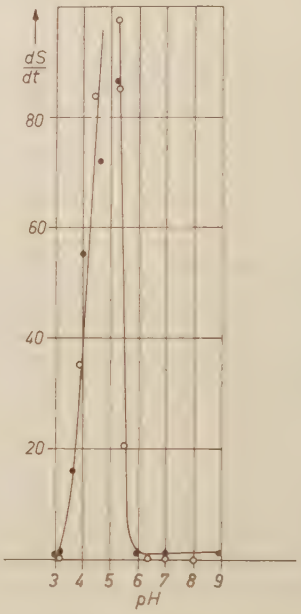


Abb. 3. dS/dt (relativer Maßstab) von RSA (ausgefüllte Kreise) und von p-Benzochinon behandeltem RSA (Kreise) bei 65° in Abhängigkeit vom p_H

Tabelle 1

Rinderserumalbumin (RSA)

Zugesetzte Substanz	p_H	Temp. °C	Effekt	Bemerkung
Jodacetat	7	81	vollständige Hemmung	
p-Chlormercuribenzoat	8	80	„ „	
„	3,3	80	teilweise „	
$NaJO_4$	7–10	70	vollständige „	
„	3,3	80	„ „	später Wiederauflösung
p-Benzochinon	7–10	65–80	„ „	
„	3,2	65	„ „	später Wiederauflösung
Formaldehyd	3–10	60–90	„ „	
Ascorbinsäure	3–5	70	„ „	
„	7	70	kein Einfluß	
Na-Tetradecylsulfat 0,01%	7	70	vollständige Hemmung	
Harnstoff, 8 m	4,4–7,65	70	„ „	
Cystein	7	40–90	starke Beschleunigung	
Na-Thioglykolat	7	65	„ „	
Na-Sulfit	7	65	„ „	
Kaliumcyanid	7	65	Beschleunigung	chinonblockiertes RSA
Cystein	3,3	80	teilweise Hemmung	
Na-Thioglykolat	3,3	80	kein Einfluß	
Na-Sulfit	3,3	80	„ „	

wirkung der SH-blockierenden Substanzen erkennen.

Formaldehyd verursachte bei jedem Protein eine mehr oder minder vollständige Hemmung der Aggregation. (Dies gilt auch für SS- und SH-freie Proteine, die durch vollständige Oxydation ihrer Schwefelgruppen erhalten worden sind.) Die Wirkung des Formaldehyds beruht wahrscheinlich außer auf einer Reaktion mit SH- und NH_2-Gruppen auf seiner Blockierung der -NH-Gruppen der Peptidbindungen (vgl. w. u.) und ist somit kein spezifisches SH-Reagenz. Spezifisch wirken hingegen die Substanzen Jodacetat, p-Chlormercuribenzoat, Benzochinon und mit gewissen Einschränkungen $NaJO_4$. Die Einzelheiten sind aus Tabelle 1 zu ersehen[2]). 8 molare Harnstofflösung hemmt beim RSA zwischen p_H 4,4 und 7,65 vollständig.

Bemerkenswerterweise werden hemmende Wirkungen sowohl im alkalischen als auch im sauren Bereich beobachtet. Während im alkalischen Bereich immer vollständige Hemmung eintritt, gleichgültig ob die Substanz vor oder während des Versuchs zugegeben wird, zeigen sich im sauren Bereich Unterschiede. p-Chlormercuribenzoat beim p_H 3,3 nur teilweise, Benzochinon und $NaJO_4$ hemmen nicht nur, sondern führen bei Zugabe während des Versuchs sogar zur Wiederauflösung der Aggregate.

Im unteren Teil der Tabelle 1 sind noch die Wirkungen einiger Substanzen aufgeführt, die die SS-Gruppen unter Bildung einer SH-Gruppe und einer SR-Gruppe aufspalten. Im alkalischen Bereich wird in jedem Fall eine starke Beschleunigung der Aggregation beobachtet. Cystein kann sogar bei 40°, wo normalerweise überhaupt keine Reaktion einsetzt, eine Aggregation auslösen. Das gleiche gilt für Lösungen in Puffern geringer Ionenstärke, in denen die Moleküle bei 60 bis 70° nicht aggregieren (vgl. w. u.). Bei p_H 3,3 wirkt Cystein teilweise hemmend. Die anderen Substanzen haben keinen Einfluß.

Diese Versuche weisen deutlich auf eine Beeinflussung des Aggregationsmechanismus bei Veränderung der SH-Gruppen des Proteins hin.

[2]) Die hemmende Wirkung der Ascorbinsäure soll nach *Bresler* (5) auf einem Einfluß auf die NH_2-Gruppen beruhen.

Sämtliche hemmende Wirkungen wurden auch bei verschiedenen Zuckern beobachtet.

Der Versuch mit Natriumtetradecylsulfat wurde nur unternommen, um die bekannte Wirkung dieser Substanz auf die Hemmung der Aggregation in unserem System zu prüfen.

Wegen seiner bekannten SH-blockierenden Wirkung wurde auch Äthylmaleinimid untersucht. Diese Substanz zeigt ein abweichendes Verhalten. Es erhöht nämlich im alkalischen Bereich die Aggregationsgeschwindigkeit beträchtlich. Die *S,t*-Kurve ist beim RSA im Gegensatz zu normalen Versuchen aufwärts gekrümmt, und die Aggregation hört bei einem bestimmten Zeitpunkt auf. Kühlt man eine solche, längere Zeit erwärmte Lösung wieder ab, gehen die Streuwerte praktisch vollständig auf ihren Ursprungswert vor dem Erwärmen zurück. In besonderen Versuchen wurde RSA in der Kälte mit Äthylmaleinimid im Überschuß behandelt, das Überschüssige durch 48stündige Dialyse bei 4° entfernt und die Lösung in der Lichtstreuungsapparatur auf 70° erhitzt. Diese Lösungen verhielten sich genau wie diejenigen mit überschüssigem Äthylmaleinimid: nach einer sehr schnellen Aggregation Konstantwerden der Streuwerte, Desaggregation nach Abkühlen Das Äthylmaleinimid scheint somit zwar eine Irreversibilität der Aggregation zu verhindern, sensibilisiert die Substanz hingegen in bezug auf eine reversible Koagulation.

c) Rinderserumalbumin mit blockierter SH-Gruppe

Um Störungen durch überschüssige SH-Reagentien bei der Aggregationsreaktion auszuschließen, wurde RSA zunächst bei Zimmertemperatur mit diesen im Überschuß behandelt und dieser durch erschöpfende Dialyse bei 4° entfernt.

Der Erfolg der Blockierung der SH-Gruppe wurde durch die im experimentellen Teil beschriebene ampèrometrische Titration kontrolliert. Tabelle 2 gibt Aufschluß über die dabei erhaltenen Ergebnisse. Mit Jodacetamid gelang bei Zimmertemperatur keine Blockierung. Erfolgreich war die Blockierung mit Benzochinon und Äthylmaleinimid. Letzteres konnte jedoch wegen seiner besonderen Wirkungsweise (s. o.) nicht verwendet werden. Für die folgenden Versuche wurde daher das chinonblockierte RSA benutzt.

Tabelle 2

Zahl der titrierbaren SH-Gruppen pro Molekül ReA

Substanz	SH-Gruppen
RSA nativ	0.64
RSA erhitzt	0.70
RSA + N-Äthylmaleinimid*)	—
RSA + Jodacetamid*)	0.81
RSA + p-Benzochinon*)	—

*) Nach erschöpfender Dialyse.

Natives RSA aggregiert im p_H-Gebiet zwischen 6,5 und 10 bei 65° in erheblichem Maße (vgl. Abb. 1 und 2). Lösungen des chinonblockierten RSA blieben beim Erhitzen im gleichen Gebiet unverändert, soweit es sich durch die Lichtstreuung feststellen läßt. Im isoelektrischen Bereich aggregiert es hingegen in gleicher Weise wie

das native RSA. Auch die p_H-Abhängigkeit von *dS/dt* ist die gleiche, wie Abb. 3 (Kreise) erkennen läßt. Oberhalb von p_H 6,5 wird *dS/dt* praktisch gleich Null.

Diese Ergebnisse führen zu der Schlußfolgerung, daß beide in der Einleitung erwähnten Aggregationsmechanismen, die der Koagulation und der der Reaktion zwischen SH- und SS-Gruppen zweier verschiedener Proteinmoleküle, möglich sein können. Im isoelektrischen Bereich herrscht die Koagulation vor. Dort hat die An- oder Abwesenheit von SH-Gruppen keinen Einfluß. Die Grenze des Bereichs hängt noch von der Ionenstärke ab, ist aber bei einer bestimmten Ionenstärke gut definiert. Im alkalischen p_H-Gebiet oberhalb der Grenzen lassen die angeführten Versuchsergebnisse auf eine Beteiligung der SH-Gruppen des RSA an der Aggregationsreaktion schließen.

Weitere Aufschlüsse sollte nun die Untersuchung von Proteinen liefern, die keine SH-Gruppen, sondern nur SS-Gruppen enthalten.

d) SH-freie Proteine (Insulin, Ribonuclease)

Insulin und Ribonuclease enthalten mit großer Sicherheit nur SS- und keine SH-Gruppen. Falls die im vorigen Abschnitt entwickelten Vorstellungen richtig sind, sollten diese Substanzen beim Erwärmen nur nach einem Koagulationsmechanismus aggregieren. Für das Insulin wurde die in Abb. 4 dargestellte p_H-Abhängigkeit von *dS/dt* gefunden. Beiderseits des isoelektrischen Punktes gibt es auch bei hohen Ionenstärken Grenzen, wo die Aggregation vollständig aufhört. Bei p_H-Werten oberhalb von 10 ist allerdings ein Wiederanstieg zu beobachten, welcher möglicherweise auf der durch Alkali begünstigten Hydrolyse der SS-Gruppen beruht. Die Breite des Aggregationsbereiches wird mit abnehmender Ionenstärke geringer. Im Gegensatz zum RSA, welches bei p_H 8,2 und der Ionenstärke 0,1 bei 65° irreversibel aggregiert, läßt sich die Aggregation des Insulins unter den gleichen Bedingungen durch Abkühlen teilweise wieder rückgängig machen. Solche erwärmten und wieder abgekühlten Lösungen besitzen zwar nicht die Streuwerte der Ausgangslösung, sondern solche, die etwa einem doppelten Molekulargewicht des Insulins entsprechen (durch Extrapolation der *S,c*-Kurve gegen Null und Kalibrierung gegen Benzol erhält man beim Insulin ein Molgewicht von 12000. Die erwärmte und wieder abgekühlte Lösung besitzt ein solches von etwa 24000[3]).

Entsprechend den beim RSA in Tabelle 1 angeführten Versuchen wurden Insulinlösungen ebenfalls mit SH-blockierenden Reagentien versetzt. Abgesehen von der auch hier hemmenden Wirkung des Formaldehyds und der besonderen Wirkung des Äthylmaleinimids besaßen Benzochinon und Jodacetamid keinen Einfluß auf die Geschwindigkeit oder das Ausmaß der Aggregation. Bei Zusatz von Jodacetamid erhielt man im Gegensatz zu reinen Insulinlösungen bei erwärmten und wieder abgekühlten Lösungen Trübungswerte, die praktisch denjenigen vor dem Erwärmen entsprachen. Dies mag darauf zurückzuführen sein, daß Jodacetamid auch mit NH_2-Gruppen reagieren kann und die Ausbildung von Aggregaten des Molgewichts von etwa 24000 verhindert.

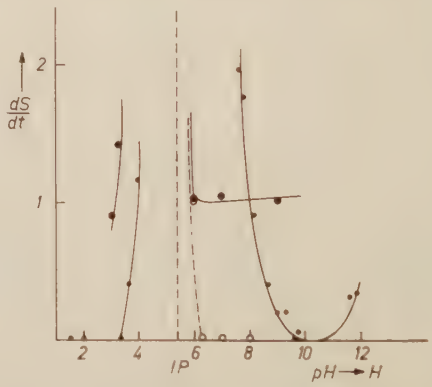


Abb. 4. *dS/dt* von Insulin (kleine Punkte) in Abhängigkeit vom p_H. Zum Vergleich ist *dS/dt* von RSA (große Punkte) und mit Chinon behandeltem RSA (Kreise) miteingezeichnet. *I.P.* = Isoelektrischer Punkt des Insulins

Die Aggregationsgeschwindigkeit des Insulins ist erheblich von der Ionenstärke und der Temperatur abhängig. Bei geringen Ionenstärken muß auf Temperaturen über 75° erhitzt werden, um überhaupt eine Aggregation herbeizuführen. Bei 60 bis 65° ist auch bei höheren Ionenstärken (0,1) kaum noch eine Aggregation bemerkbar.

Ursprünglich wurde befürchtet, daß sich das zinkhaltige Insulin bei der Denaturierung und der Aggregation anders verhält als das zinkfreie; besondere Sorgfalt wurde daher auf die Herstellung eines zinkfreien Präparates verwandt, die im experimentellen Teil be-

[3]) Vgl. hierzu die Ergebnisse von *Waugh* (17).

Wird die Erwärmung der Lösungen bei höherer Ionenstärke, wie sie etwa durch Zusatz von NaCl hergestellt werden können, vorgenommen, ist die Aggregation praktisch irreversibel, da ein Niederschlag ausfällt, der nur durch 0,1 n HCl wieder in Lösung zu bringen ist.

schrieben worden ist. Ein Einfluß des Zinkgehalts auf die Aggregationsgeschwindigkeit konnte jedoch entgegen früheren Versuchen nicht bestätigt werden.

Um eine Redoxreaktion zwischen zwei Proteinmolekülen, die keine SH-Gruppen besitzen, in Gang zu bringen, sollte es ausreichen, einen Teil der SS-Gruppen reduktiv zu spalten. Dies kann mit Mercaptoverbindungen wie Cystein oder Thioglykolsäure nach dem Schema

$$(SS)\,A\,(SS)_2\,B + HSR \rightarrow (SS)\,A\,\underset{|}{SH}\;\;SS\,B\;\;\underset{|}{SS}\,R \quad \text{bzw.} \quad \begin{matrix} HS \\ RSS \end{matrix} \!\!>\!\!\!

Bei der Ribonuclease ist bei p_H 7 beim Erwärmen auf 75° auch bei Ionenstärke von 0,1 keine Aggregation festzustellen, durch Zugabe von KCN läßt sich aber wie beim Insulin eine Aggregation auslösen, die durch Jodacetamid hemmbar ist.

Aus den in diesem Abschnitt mitgeteilten Beobachtungen kann geschlossen werden, daß die Aggregation des Insulins beim Erwärmen im Wesentlichen auf einem Koagulationsmechanismus beruhen dürfte.

e) β-Lactoglobulin

Über die Aggregationsreaktion des β-Lactoglobulins wurde bereits in einer früheren Arbeit berichtet (10). Der gegenüber dem RSA völlig andersartige Verlauf der S,t-Kurven (vgl. Abb. 1), besonders das Auftreten mehrerer deutlich von Konzentration, Temperatur und Ionenstärke abhängiger Reaktionsperioden, gab Veranlassung, die Substanz noch einmal näher zu untersuchen. Die in Abb. 1 dargestellte S,t-Kurve einer erhitzten Lösung von β-Lactoglobulin läßt deutlich 3 Perioden erkennen. In der ersten kurzen Periode nach Erreichen der Temperatur sinkt S relativ rasch ab und erreicht einen Wert, der etwa dem halben Molgewicht (10) entspricht. (Dieser Abfall ist völlig reversibel; S erreicht nach Abkühlen wieder seinen ursprünglichen Wert. Das gilt auch für Versuche bei niedrigerer Ionenstärke [0,005] nach mehr als halbstündigem Erhitzen!) Hiernach steigt S mehr oder weniger schnell wieder an oder bleibt bei höheren p_H-Werten und niedrigerer Ionenstärke bzw. niedrigerer Konzentration über einen längeren Zeitraum konstant. Bei höherer Konzentration, niedrigerem p_H und höherer Ionenstärke folgt dieser zweiten Periode ein ausgeprägter Anstieg von S, der über längere Zeiten linear verläuft. Nach sehr langen Zeiten biegt die S,t-Kurve ähnlich wie beim RSA und Insulin wieder um, wenn nicht eine Ausflockung des Proteins der Reaktion zuvor ein Ende setzt. Konstante Endwerte werden auch nach langen Zeiten nicht beobachtet.

Auch die Aggregation des β-Lactoglobulins läßt sich durch Zugabe von SH-blockierenden und SS-Gruppen reduzierenden Substanzen beeinflussen. Doch ist ihre Wirkung davon abhängig, ob man sie vor oder während der Aggregation zufügt. Jodacetat und $NaJO_4$ vor dem Versuch zugegeben, lassen nur noch den geringen Abfall der ersten Periode erkennen. Weitere Aggregationen bleiben jedoch völlig aus. Anders liegen die Verhältnisse, wenn man die Substanzen während des Versuchs zugibt, wobei es noch darauf ankommt, zu welchem Zeitpunkt des Reaktionsablaufs die Zugabe erfolgt. In der dritten Periode läßt sich die Reaktion – außer durch Formaldehyd – durch keine der genannten Substanzen mehr beeinflussen. Die S,t-Kurve bleibt die gleiche wie beim Versuch ohne Zusatz. Gibt man Jodacetat während der zweiten Periode zu, so kann man in einem frühen Zugabezeitpunkt noch eine weitgehende Hemmung erreichen, doch gelingt dies um so weniger, je weiter die Reaktion schon fortgeschritten ist. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3

β-Lactoglobulin

Zugesetzte Substanz	p_H	Temp. °C	Effekt	Bemerkung
Formaldehyd	3–10	60–90	vollständige Hemmung	
Jodacetat	7	70	„ „	Zugabe vor dem Versuch
„	7	70	teilweise „	„ Beginn 2. Periode
„	7	70	kein Einfluß	„ während 3. Periode
„	3,6	70	„ „	„ während 3. Periode
$NaJO_4$	7	70	vollständige Hemmung	Zugabe vor dem Versuch
„	7	70	kein Einfluß	„ Ende 2. Periode
„	3	70	vollständige Hemmung	„ vor dem Versuch
	3	70	geringe Hemmung	„ Beginn 2. Periode
Cystein	7	63	kein Einfluß	Zugabe vor dem Versuch
	7	67–93	Beschleunigung*)	„ vor dem Versuch
	7	67–93	„	„ in der 2. Periode
	3,6	75	„	„ in der 2. Periode
Na-Sulfit	7	70	unvollständige Hemmung	„ vor dem Versuch
	7	70	„ „	„ in der 2. Periode

*) Durch Jodacetamid wieder rückgängig zu machen (vgl. Text).

Versuche in Gegenwart SS-spaltender Reduktionsmittel führen anscheinend zu Widersprüchen. Cystein zeigt bei p_H 7 und 63° keinen Einfluß. Bei höherer Temperatur kann es sowohl im sauren als auch im alkalischen Bereich eine heftige Aggregation auslösen. Natriumsulfit hemmt die Aggregation im alkalischen Bereich deutlich, vermag sie aber nicht vollständig zu unterdrücken.

Das Cystein wirkt sicherlich in gleicher Weise wie beim RSA und Insulin, indem es eine Aggregation nach dem SH-SS-Mechanismus induziert, was daran zu erkennen ist, daß eine solche Reaktion durch Jodacetamid hemmbar ist.

Da Natriumsulfit keine Aggregation auslöst, muß geschlossen werden, daß die durch Cystein induzierte Reaktion an denjenigen SS-Gruppen fortschreitet, die zwischen Lactoglobulin und Cystein gebildet worden sind. Andererseits läßt die Natriumsulfit-Hemmung eine Beteiligung bestimmter SS-Gruppen am Mechanismus vermuten, ebenso wie dies für die Beteiligung von SH-Gruppen gelten sollte.

Aus der Unbeeinflußbarkeit der Aggregation im Gebiet des steilen Anstiegs der dritten Periode durch SH- und SS-Reagentien sowie der Linearität der S,t-Kurve über lange Zeiträume geht hervor, daß in diesem Bereich ein Koagulationsmechanismus vorherrscht. Andererseits läßt sich ein Einfluß der genannten Reagentien deutlich feststellen; wenn es sich um eine Koagulation handelt, muß diese an gewisse Vorbedingungen geknüpft sein, die durch einen SH-SS-Mechanismus beherrscht werden.

Die Koagulation setzt grob gesehen erst nach einer Art Induktionsperiode ein; dem linearen Anstieg geht eine nach oben gekrümmte Kurve voraus, wie sie häufig bei autokatalytischen Reaktionen beobachtet werden kann. Man gewinnt daraus den Eindruck, die Koagulation könne erst beginnen, wenn eine andere Reaktion abgelaufen sei, deren Reaktionsprodukte die zur Koagulation befähigten Einheiten darstellen. Nimmt man die Ergebnisse der Hemmungsversuche hinzu, so läßt sich folgendes Bild entwerfen:

Nach Aufspaltung des β-Lactoglubulins in der ersten Periode – die durch keine Maßnahme beeinflußbar ist – beginnt eine Reaktion zwischen den Spaltstücken, an welcher SH- und SS-Gruppen beteiligt sind. Die dabei entstehenden Reaktionsprodukte – wahrscheinlich Dimere – sind dann in der Lage zu koagulieren, nicht dagegen die Spaltstücke. Unterdrückt man die Redoxreaktion von Anfang an, folgt auch keine Koagulation; sind die Reaktionsprodukte bereits in ausreichender Menge gebildet, kann die Koagulation durch SH-Blocker nicht mehr beeinflußt werden. Es sei denn, diese würden in einem Zeitpunkt zugegeben, wo die Redoxreaktion nicht alle Ausgangssubstanz verbraucht hat.

Durch die Koppelung einer SH-SS-Reaktion mit der Koagulation ist die Aggregationsgeschwindigkeit des β-Lactoglobulins außerordentlich empfindlich gegen äußere Einflüsse. Geringe Veränderungen der Reaktionsfähigkeit der SH- oder SS-Gruppen äußern sich in einer Verminderung der Geschwindigkeit der Koagulation. Die reine Lösung des Proteins (unter konstanten äußeren Bedingungen) zeigt immer die höchste Geschwindigkeit. Geringfügige Einflüsse, wie etwa Filtration durch eine Glasnutsche, heftiges Durchleiten von Luft, sehr starkes Rühren usw., können sich bereits in einer Verminderung der Geschwindigkeit bemerkbar machen.

Um zu prüfen, ob Luft-Sauerstoff den Aggregationsmechanismus des β-Lactoglobulins beeinflußt, wurde ein besonderer Versuch in einer Küvette vorgenommen, die es erlaubte, unter völligem Luftausschluß zu arbeiten. Das Ergebnis war eine um etwa 12% höhere Aggregationsgeschwindigkeit gegenüber den luftgesättigten Lösungen. Somit scheint ein Sauerstoffeinfluß vorhanden zu sein; es ist aber unwahrscheinlich, daß der Mechanismus dadurch grundlegend beeinflußt wird.

f) Einfluß der Ionenstärke

dS/dt aller untersuchten Proteine hängt mehr oder minder stark von der Ionenstärke der verwendeten Lösung ab. Die Zusammenhänge sind aber ziemlich kompliziert, da die Abhängigkeit nicht nur von Protein zu Protein verschieden ist, sondern auch durch den p_H-Wert bestimmt wird. Dies ist nach den bereits gefundenen Ergebnissen unschwer zu verstehen, da die Beeinflußbarkeit durch die Ionenstärke vom vorherrschenden Reaktionsmechanismus abhängen muß.

In Tabelle 4 sind einige Werte von dS/dt in relativem Maßstab angegeben, d. h. nur die in einer Kolonne stehenden Zahlen sind vergleichbar. Von *Munk*, *Kratochvíl* und *Sedláček* (18) wurde gefunden, daß die Aggregationsgeschwindigkeit des menschlichen Serumalbumins unterhalb etwa p_H 6,6 mit zunehmender Ionenstärke abnimmt, oberhalb davon bis $\mu = 0{,}1$ zu- und bei höheren Werten (bis zu $\mu = 0{,}8$) wieder abnimmt. Ähnliches wird für RSA beobachtet; bei p_H 7 wurde eine Zunahme von dS/dt bis

Tabelle 4

Einfluß der Ionenstärke μ auf dS/dt in relativen Werten

μ	RSA p_H 7,0, c = 0,2% t = 68 °C	RSA + Cystein p_H 7,0, c = 0,2% t = 57 °C	Insulin p_H 8,0, c = 0,14% t = 82 °C	β-Lactoglobulin c = 0,2% p_H 7,0; 81°	p_H 7,0; 93°	p_H 3,6; 81°
0,005	0	—	—	—	—	—
0,05	0,4	0,1	0,3	0,01	0	0
0,1	0,8	—	0,48	0,14	0,2	0,74
0,2	0,8	0,09	1,0	1,55	2,5	6,7
0,4	0,85	0,125	—	—	—	—

μ = 0,1 gefunden, bei Erhöhung auf μ = 0,2 jedoch keine Änderung. Im isoelektrischen Gebiet wurde eine Zunahme von dS/dt mit abnehmender Ionenstärke beobachtet, RSA (0,2%) in destilliertem Wasser gelöst, das einen p_H-Wert von etwa 5 besitzt, koaguliert mit unmeßbar großer Geschwindigkeit.

Die cysteininduzierte Aggregation des RSA in einem Temperaturgebiet, wo ohne Cysteinzusatz keine Aggregation beobachtet wird, zeigt ein ähnliches Verhalten wie die des nativen RSA bei höherer Temperatur.

Insulin zeigt eine stetige Zunahme mit wachsender Ionenstärke, β-Lactoglobulin (3. Periode) bei kleinen Ionenstärken vollständige Hemmung, bei großen einen sehr starken Anstieg.

4. Aggregation und Denaturierung

Eingangs war die Frage gestellt worden, ob die Aggregation eine Folge der Denaturierung der Proteine ist, also erst dann einsetzt, wenn das native Protein in einem bestimmten Zustand geringerer Ordnung übergegangen ist, ob die Aggregation unabhängig von diesem Zustand oder ob schließlich beide Vorgänge nebeneinander herlaufen können.

Zur experimentellen Prüfung dieser Fragen wurde die Methode der optischen Drehung und ihrer Wellenlängenabhängigkeit benutzt.

Legt man die Gleichung von *Drude* in der Form

$$[\alpha]\,\lambda^2 = K\,\lambda_c^2 + [\alpha]\,\lambda_c^2 \qquad [1]$$

zugrunde, läßt sich λ_c^2 als Neigung aus einem Diagramm entnehmen, in welchem $[\alpha]\,\lambda^2$ gegen $[\alpha]$ aufgetragen ist. Unter Voraussetzung der Gültigkeit der Theorie von *Moffitt* (12) lassen sich dann aus der Größe der Konstanten λ_c Rückschlüsse auf die Anteile der zu α-Helices aufgerollten Peptidketten ziehen. Nach *Schellmann* (2) haben durch Harnstoff denaturierte Proteine λ_c-Werte zwischen 212 und 225 mμ, wenn auch von *Jirgensons* (19) native Proteine mit ähnlichen Werten gefunden worden sind. Mit steigenden Helixanteilen erreicht λ_c Werte zwischen 240 und 280 mμ, wobei bei Abweichungen von der *Drude*-Gleichung noch Glieder mit höheren Potenzen von λ und λ_c berücksichtigt werden müssen (13).

Wenn nun geprüft werden soll, ob beim Erwärmen der Proteinlösungen eine irreversible Änderung der Helixstruktur eintritt, kann davon ausgegangen werden, daß diese Änderung nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur nicht sofort zurückgeht[4]). Die Lösungen wurden daher zunächst in der Lichtstreuungsapparatur erwärmt und dabei kontrolliert, ob Aggregation eingetreten ist oder nicht. Die gleiche Lösung wurde schnell auf 20° abgekühlt (1 bis 2 Minuten) und im Polarimeter gemessen. Um festzustellen, ob die Aggregation die Rotationsdispersion beeinflußt, wurden die Lösungen einerseits bei sehr niedriger Ionenstärke, wo das Protein nicht aggregiert, andererseits bei hoher Ionenstärke, wo starke Aggregation einsetzt, untersucht.

Beim RSA wurde zunächst bei p_H 7,75 und μ = 0,001 (keine Aggregation) gemessen. Aus der Tabelle 4 ist ersichtlich, daß λ_c auch bei langer Erhitzungsdauer nur wenig gegenüber dem Wert des nativen RSA abnimmt. Das gleiche wird bei Lösungen hoher Ionenstärke und starker Aggregation gefunden. In der Koagulationszone p_H 4,7 wird ebenfalls nur eine geringe Änderung beobachtet. Etwas größer war die Änderung von λ_c, wenn bei p_H 2 in der Kälte und in der Wärme (40°) gemessen wurde. Man erreichte jedoch nie kleinere Werte als etwa 250 mμ.

Vergleicht man diese Werte mit dem Wert des durch Harnstoff denaturierten RSA, erkennt man, daß die durch die Wärme hervorgerufenen irreversiblen Konfigurationsänderungen von erheblich geringerem Ausmaß sein müssen als die durch Harnstoff verursachten.

[4]) Über die Kinetik dieser Vorgänge soll in einer besonderen Arbeit berichtet werden. Die Messungen nach 1 Minute bis 90 Minuten nach der Abschreckung zeigten keine Unterschiede, die außerhalb der Fehlergrenze lagen.

Tabelle 5

λ_c = Konstante der Rotationsdispersion. 1 = RSA. 2 = β-Lactoglobulin

Substanz Nr.	p_H	μ	λ_c (mμ) 20°	λ_c (mμ) 65° → 20°	Aggregation	Bemerkung
1	7,8	0,001	263,3	260	—	
1	7	0,1	264,6	256	++	
1	4,7	0,1	265,0	261	+++	
1	7	0,3	264	268	+—	Zusatz von HCHO
1	7	0,3	—	268	+	Zusatz von HCHO + KCN
1	7	0,1	217,5	—	—	Zusatz von 8 mol Harnstoff
1	2	0,1	266	255	+	in der Wärme λ_c = 252 mμ ± 3
2	8	0,1	241,5	234	++	
2	8	0,01	242,0	233	—	
2	8	0,005	239,0	233	—	
2	8	0,1	225	—	—	Zusatz von 8 mol Harnstoff
2	8	0,1				Zusatz von 3,8 mol Harnstoff

In einigen Versuchen wurden die SS-Gruppen des RSA durch KCN gewaltsam aufgespalten und eine wesentliche Aggregation durch Gegenwart von Formaldehyd verhindert. In diesem Fall beobachtet man eine geringe Zunahme von λ_c gegenüber dem nativen Protein.

Trotz der meist geringen Änderung von λ_c nimmt in allen untersuchten Fällen die Linksdrehung bei 578 mμ zu, woraus auf irgendeine Konfigurationsänderung zu schließen ist (vgl. 11).

Beim β-Lactoglobulin scheinen die Verhältnisse etwas anders zu liegen. Bei kleiner und großer Ionenstärke werden λ_c-Werte beobachtet, die denen gleichen, die bei Zugabe von 3,8 Mol Harnstoff in der Kälte erhalten werden. Zwar ist die Differenz gegenüber dem nativen Protein nicht so groß, dieses hat aber in diesem Zustand bereits relativ niedrige λ_c-Konstanten. Hier scheint also eine weitergehende Zerstörung der Struktur durch die Erwärmung bewirkt zu werden als beim RSA. Irgendwelche Einflüsse der Aggregation waren aber auch hier nicht zu beobachten.

5. Diskussion

Die Aggregation der Proteine beim Erwärmen in wäßrigen Lösungen ist nicht, wie zunächst vermutet, entweder als „Koagulation" oder als Reaktion zwischen SH- und SS-Gruppen anzusehen. Beide Reaktionsmechanismen können auftreten, wobei es von der Konstitution des Proteins, p_H-Wert, Ionenstärke und Temperatur abhängt, nach welchem Mechanismus die Reaktion abläuft. Natürlich sollten schwefelfreie Proteine nur „koagulieren", ebenso mit großer Wahrscheinlichkeit solche Proteine, die ausschließlich SH- oder SS-Gruppen besitzen, vorausgesetzt, daß man sie nicht über 85° erwärmt oder mit reduzierenden oder oxydierenden Substanzen behandelt. Alle untersuchten Proteine „koagulieren" in der Nähe des Ladungsnullpunktes, wenn sie auf Temperaturen oberhalb von 70° erwärmt werden. Eine Ausfällung des Proteins findet nur gelegentlich bei höherkonzentrierten Lösungen statt. In verdünnteren Lösungen wird ein stationärer Zustand erreicht, bei dem die aggregierten Partikel dispergiert bleiben. Beim Insulin scheint dieser Zustand einem echten Gleichgewicht zu entsprechen; hier entstehen Aggregate, die bei den betreffenden Bedingungen immer denselben mittleren Aggregationsgrad besitzen. Ob Aggregate einheitlicher Größe entstanden sind, wurde nicht untersucht, da hierüber ins einzelne gehende Beobachtungen von *Waugh* (17) vorliegen.

Bei den anderen untersuchten Proteinen kommt es zu keinem echten Gleichgewichtszustand hinsichtlich der Aggregatgröße. Die Trübungswerte nehmen auch bei sehr langen Beobachtungszeiten immer noch zu. Die Einstellung eines Endwertes konnte nie beobachtet werden. Ein solches Verhalten zeigten die Proteine sowohl im Koagulationsgebiet als auch bei der SH-SS-Reaktion[5]).

Außerhalb der Koagulationsgrenze des alkalischen Bereiches beruht die Aggregation des RSA mit großer Wahrscheinlichkeit auf einer Reaktion zwischen SH- und SS-Gruppen verschiedener Proteinmoleküle. Im sauren Bereich scheint dies noch nicht ganz sicher zu sein, wenn auch eine Beteiligung einer solchen Reaktion wegen der Beeinflussung durch SH-Reagentien (Tabelle 1) möglich erscheint.

Die geringfügige Abhängigkeit der Aggregationsgeschwindigkeit der SH-SS-Reaktion

[5]) Hierüber soll in einer folgenden Arbeit Näheres berichtet werden.

beim RSA vom p_H, die erst bei beträchtlich höheren p_H-Werten (> p_H 10) stärker zunimmt, ist im Einklang mit den Vorstellungen, die man sich über die chemische Natur dieser Reaktion machen kann. Wenn auch dS/dt in diesem Gebiet merklich ansteigt, ist eine Korrelation zwischen Geschwindigkeit und Menge der vorliegenden S^--Ionen sehr unsicher, weil bei höher alkalischen Werten möglicherweise eine Hydrolyse der SS-Gruppen ins Spiel kommen kann. Auch kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob noch andere reaktive Gruppen des Proteins dabei mitwirken.

Unterstützt werden diese Vorstellungen durch die Ähnlichkeit der unbeeinflußten und durch Cystein induzierten Aggregation des RSA hinsichtlich ihrer Abhängigkeit von der Ionenstärke μ. Beide Reaktionsgeschwindigkeiten sind oberhalb einer gewissen Ionenstärke von μ unabhängig (vgl. Tabelle 4).

Aus den Messungen der Rotationsdispersion beim und nach dem Erwärmen kann geschlossen werden, daß die Denaturierung des RSA im Sinne einer vollständigen und irreversiblen Zerstörung der Sekundärstruktur keine notwendige Voraussetzung weder für die SH-SS-Reaktion noch für die Koagulation ist. Nun zeigt die Änderung der λ_c-Konstante nur die Änderung der Anteile an, die zu Helices angeordnet sind. Neben den Helix-Strukturen ist aber nach *Doty* (14) das Vorhandensein eines erheblichen Anteils an ungeordneten Bereichen anzunehmen. Beim nativen RSA beträgt dieser Anteil 40–50%. Viele Beobachtungen weisen auf eine Auflockerung oder Quellung des RSA-Moleküls beim Erwärmen hin. So z. B. die Messungen von *Doty* und *Katz*, die Bestimmung des Tritiumaustauschs bei erhöhter Temperatur [*Bresler* (5)], die eigenen Beobachtungen über die Unzugänglichkeit der SH-Gruppe für Jodacetamid bei Zimmertemperatur und ihrer Zugänglichkeit bei erhöhter Temperatur, die wachsende Zugänglichkeit der SS-Gruppen beim Erwärmen [*Stauff* und *Duden* (16)] und nicht zuletzt die Erhöhung der Linksdrehung bei 578 mμ. Daß gerade dieser Effekt durch eine Ausdehnung ungeordneter Bereiche verursacht werden kann, wurde beim oxydierten RSA in einer früheren Arbeit nachgewiesen (11). Wenn nun beobachtet wird, daß λ_c des RSA nur wenig verändert wird, während andere Ergebnisse deutlich auf eine Auflockerung des Proteinmoleküls hinweisen, wäre daraus zu schließen, daß diese Auflockerung nicht die geordneten, sondern die ungeordneten Bereiche des Moleküls oder dessen Tertiärstruktur betreffen könnte. Dies könnte ausreichen, um die für die „Koagulation" wirksamen Bindungskräfte oder die für die SH-SS-Reaktion nötigen Gruppen freizulegen.

Beim β-Lactoglobulin ist die Beteiligung des SH-SS-Mechanismus an der Aggregationsreaktion nachzuweisen. Das gesamte Geschehen setzt sich aber aus verschiedenen Schritten zusammen, wobei ein Teil von der Redoxreaktion, ein anderer Teil von der „Koagulation" beherrscht wird.

Der zunächst einsetzende Abfall der Lichtstreuungswerte kurz nach dem Erhitzen scheint einen Zerfall in zwei Bruchstücke anzudeuten, der beim Abkühlen wieder rückgängig gemacht werden kann. Danach muß neben einem Zerfall in Bruchstücke eine Auflockerung ungeordneter und eine partielle Zerstörung der Helixstruktur einsetzen, denn λ_c ändert sich auch, ohne daß Aggregation eintritt. Wenn nun eine Aggregation bei Anwesenheit SH-blockierender oder bestimmter SS-spaltender Reagentien ausbleibt, so deutet dies auf eine der „Koagulation" vorgelagerte SH-SS-Reaktion hin.

Nimmt man an, daß zunächst zwei Moleküle des Proteins nach dem SH-SS-Mechanismus reagieren und nur das gebildete Dimere zur Koagulation fähig ist, kann die Koagulationskurve (Abb. 1) auch quantitativ gedeutet werden.

Es bleibt nun noch zu diskutieren, worauf die als Koagulation bezeichnete Aggregationsreaktion beruht. Die Ergebnisse fordern zu folgender Hypothese heraus:

Die Aggregation bei Nichteintreten von SH-SS-Redoxreaktionen wird in überwiegendem Maße durch Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen NH- und –CO-Gruppen zwischen 2 Proteinmolekülen verursacht, wobei unspezifische Bindungskräfte die Verhältnisse zusätzlich beeinflussen können. Für diese Annahme spricht das Ausbleiben der Aggregation des RSA im isoelektrischen Bereich nach Harnstoffzusatz bzw. Einwirkung von Formaldehyd, die auch bei allen übrigen Proteinen beobachtet wurde und die auch von anderen Autoren beschrieben worden ist. Die Blockierung der NH- und CO-Gruppen durch Harnstoff darf als bekannte Tatsache angesehen werden. Die Wirkung des Formaldehyds dürfte bei der Redoxreaktion auf einer Blockierung der SH-Gruppen, aber nicht auf einer Reaktion mit NH_2-Guanidino und Imidazol-Gruppen beruhen, denn es beeinflußt die Aggregation auch im schwach

sauren p_H-Gebiet (p_H 3–4), wo jene Reaktion nicht mehr stattfinden sollte[6]).

Formaldehyd kann mit den –NH-Gruppen der Peptidbindung reagieren und sie vor einer Wechselwirkung mit –CO-Gruppen eines zweiten Moleküls schützen. (Vgl. Diskussion dieser Verhältnisse bei *Jaenicke* und *Stauff*.)

Die Bereitschaft zur Koagulation ist – thermodynamisch gesehen – zunächst eine Funktion der Löslichkeit des Proteins bei der betreffenden Temperatur. Diese muß gegenüber der bei Zimmertemperatur erniedrigt sein. Grob gesehen wird aber die Löslichkeit bei erhöhter Temperatur sich ähnlich verhalten wie die bei niedriger Temperatur, sie wird mit zunehmender Nettoladung des Proteins zunehmen und bei Zugabe von Elektrolyt einen Einsalz- und Aussalzeffekt zeigen. Bei ausreichender Nettoladung, d. h. in gewissem Abstand der p_H-Werte vom Ladungsnullpunkt, wird dann die Löslichkeit so groß, daß keine Ausfällung mehr eintritt. Allein aus diesem Grunde muß es für bestimmte Konzentrationen und Ionenstärken thermodynamisch definierte p_H-Grenzwerte der Koagulation geben.

Wenn nun die Löslichkeit bei erhöhter Temperatur niedriger ist als bei Normaltemperatur, so muß sie entweder einen stark negativen Temperaturkoeffizienten besitzen, oder in der Struktur der gelösten Moleküle, des ausgeschiedenen „Bodenkörpers" oder in beiden müssen Reaktionen oder Umwandlungen stattgefunden haben, die die jeweiligen chemischen Potentiale verändert haben. Man gerät sogleich in Versuchung, diese Umwandlung in der „Denaturierung" der Proteinmoleküle, also in einer völligen Veränderung ihrer Tertiär- und Sekundärstruktur durch die Erwärmung zu sehen. Bis nicht einwandfrei – etwa durch Messungen der Rotationsdispersionen und Bestimmungen der Gestalt bei erhöhter Temperatur – festgestellt ist, daß solche Veränderungen wirklich eingetreten sind, bleibt diese Ansicht fragwürdig, zumal die mitgeteilten Messungen der λ_c-Werte erhitzter und wieder abgekühlter Proteinlösungen eher das Gegenteil erwarten lassen. Andererseits ist die Zerstörung der Helixanordnung der Peptidkette für sich genommen keine hinreichende Voraussetzung für den Eintritt der Aggregation, da RSA in Harnstofflösungen nicht mehr aggregiert, obwohl es unter diesen Verhältnissen vollständig denaturiert ist. Es kommt sehr wahrscheinlich weniger auf den Ordnungszustand selbst als auf die Reaktionsfähigkeit von –NH- und –CO-Gruppen an, die in Gegenwart von Harnstoff sehr weitgehend blockiert sind[7]).

Die Reaktionsfähigkeit kann aber bereits durch eine Auflockerung der „ungeordneten" Bereiche oder durch eine (tertiäre) Entfaltung der Proteinmoleküle an bestimmten Stellen hervorgerufen werden. Auf diese Weise würde ein Zustand entstehen, dessen wesentliches Kennzeichen weniger in einem veränderten chemischen Potential als in einem Ungehemmtsein gegenüber der Aggregation bis zur schließlichen Ausfällung besteht.

Das ist zwar auch eine Denaturierung, aber – wie gerade bei dieser Erscheinung so häufig – eine ganz spezielle, die sich in der Fähigkeit des Proteinmoleküls zur Aggregation äußert.

Die Koagulation läßt sich dann so verstehen, daß Auflockerung ungeordneter Bereiche –NH- und –CO-Gruppen frei macht, die aber aus sterischen Gründen innerhalb eines einzigen Moleküls keine H-Brücken bilden können, sondern nur Gelegenheit zur Reaktion mit entsprechenden Gruppen eines zweiten Moleküls finden. Wären keine sterischen Hinderungen vorhanden, gehörten diese Peptidgruppen wahrscheinlich keinen ungeordneten Bereichen des Moleküls an, sondern hätten die Möglichkeit, sich etwa zu weiteren Helixwindungen aufzurollen, bereits wahrgenommen.

Um im Bilde der Thermodynamik zu bleiben, wäre sowohl für Koagulation als auch für die Redoxreaktion das Schema

$$P \rightleftarrows P^*; \quad \Delta G > 0 \qquad \text{(a)}$$

$$P^* \rightleftarrows P_j; \quad \Delta G < 0\,. \qquad \text{(b)}$$

charakteristisch, bei dem der partiell denaturierte aggregationsfähige Zustand des Moleküls P^* nur bei entsprechender Zufuhr von freier Enthalpie entsteht, während die Aggregation zu P_j unter Abgabe freier Enthalpie verläuft. Das Bild hat eine große Ähnlichkeit mit einem Aktivierungsvorgang, wobei P^* dem aktivierten Zustand entspräche; besser ist es, den Schritt (a) als vorgelagertes Gleichgewicht anzusehen. Die Einstellung eines Aggregations- oder Löslichkeitsgleichgewichts könnte nicht zwi-

[6]) In der nachfolgenden Arbeit von *Jaenicke* und *Stauff* (vgl. diese Zeitschrift S. 143) wird gezeigt, daß Acetyl und DNFB-Derivate des oxydierten RSA genauso aggregieren können wie Präparate, deren NH_2- usw. -Gruppen frei sind. Diese sind somit an der Aggregationsreaktion nicht beteiligt.

[7]) Da die Redoxreaktion durch Harnstoff zumindest stark gehemmt wird, müßte dieser auch mit SH-Gruppen Wasserstoffbindungen eingehen, solange diese undissoziiert sind.

schen P und P_j direkt, sondern nur indirekt über P^* erfolgen.

Nicht ohne weiteres zu trennen von den thermodynamischen Aspekten der Löslichkeit sind die Zustandsgrößen, die die *Geschwindigkeit* der Aggregation, d. h. der Reaktion $P^* \rightarrow P_j$ bestimmen. Die Temperaturabhängigkeit sowohl der Koagulation als auch der SH-SS-Reaktion deuten auf das Vorhandensein von Aktivierungsenergien hin. Da bei sehr großen Aktivierungsenergien die Reaktion sehr langsam verlaufen kann, kann dadurch eine „thermodynamische" Stabilität vorgetäuscht werden. Wenn das Ausmaß der Koagulation mit steigender Nettoladung abnimmt, da die Löslichkeit größer wird, nimmt gleichzeitig auch die Koagulationsgeschwindigkeit ab, da durch die Ladung ein abstoßendes Potential zwischen den Molekülen entstanden ist, das durch die kinetische Energie der Partikel überwunden werden muß. Das Potential ist seinerseits von der Ionenstärke, der Dielektrizitätskonstante und den wirksamen anziehenden Kräften abhängig und besitzt u. U. in einem bestimmten gegenseitigen Abstand der Partikeln ein Maximum. Bei Dispersionskolloiden, wo *van der Waals-Londons*che Attraktionskräfte maßgeblich sind, führte das zur Theorie der Koagulation wie sie durch die Arbeiten von *Derjaguin, Hamaker, Verwey* und *Overbeek* (vgl. dazu etwa 20) entwickelt worden ist. Da im Falle der Proteinkoagulation im wesentlichen die Bindungskräfte bestimmter Gruppen maßgeblich sein dürften, ist ein Vergleich mit der bekannten Theorie nur schwer möglich.

Wenn die Aggregation an bestimmten p_H-Grenzen aufhört (vgl. dazu Abb. 3), kann dieser Effekt auf einer ausreichenden Löslichkeit, bedingt durch Aufladung und Ausbildung einer Ionenatmosphäre, ebenso wie auf einer sehr hohen Aktivierungsenergie, ebenfalls bedingt durch Aufladung und Ionenatmosphäre, beruhen; da beides von den gleichen Parametern abhängt, ist eine Entscheidung zwischen beiden Mechanismen zunächst nicht möglich.

Die Arbeit wurde ermöglicht durch die Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Verbandes der Chemischen Industrie, denen wir an dieser Stelle bestens danken möchten.

Zusammenfassung

Die Wärmeaggregation verschiedener Proteine (Rinderserumalbumin, β-Lactoglobulin, Insulin, Ribonuclease) wurde mit Hilfe von Messungen der Lichtstreuung ihrer Lösungen bei Temperaturen zwischen 50° und 80° untersucht, um zu klären, inwieweit Reaktionen zwischen Sulfhydryl- und Disulfidgruppen der Proteine daran beteiligt sind.

Proteine mit SH- und SS-Gruppen wie Rinderserumalbumin und β-Lactoglobulin werden bei ihrer Wärmeaggregation durch SH-blockierende und SS-spaltende Reagentien, Proteine ohne SH-Gruppen nur durch letztere beeinflußt.

Rinderserumalbumin reagiert nach zwei verschiedenen Mechanismen; im isoelektrischen Bereich tritt Koägulation vermutlich durch Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrücken ein. Außerhalb dieses Bereichs aggregiert es nicht mehr, wenn die SH-Gruppen durch Chinon blockiert sind, bei freien SH-Gruppen führt dann jedoch eine SH-SS-Redoxreaktion zwischen 2 Proteinmolekülen zu Aggregationen. Die Koagulation ist stark, die Redoxreaktion wenig vom p_H abhängig.

β-Lactoglobulin koaguliert in der Wärme bei allen p_H-Werten, doch nur, wenn nach einer anfänglichen Spaltung vorher eine SH-SS-Redoxreaktion – die wahrscheinlich zu Dimeren führt – ablaufen kann. Durch die Koppelung der Redoxreaktion und Koagulation wird letztere von ersterer abhängig und durch die SH-Reagentien beeinflußbar.

Insulin(und Ribonuclease) aggregieren nicht über einen SH-SS-Mechanismus, dieser kann aber künstlich durch SS-Gruppen reduzierende Substanzen ausgelöst werden.

Aus Messungen der λ_c-Konstante der *Drude*schen Gleichung der Rotationsdispersion wurde geschlossen, daß das Rinderserumalbuminmolekül beim Erwärmen und bei der Aggregation zumindest keine irreversible Änderung seiner Anteile an Helixstrukturen erleidet, während beim β-Lactoglobulin eine Änderung zu beobachten ist, die der Einwirkung von etwa 3,8 mol Harnstoff entspricht.

Schrifttum

1) *Kauzmann, W.*, Adv. Protein Chem. **14**, 1 (1959).
2) *Schellmann, J. A.*, C. r. Carlsberg, Lab. sér. chim. **30**, 429 (1958).
3) *Huggins, C., D. F. Tapley* u. *E. V. Jensen*, Nature **167**, 592 (1951).
4) *Stauff, J.*, Kolloid-Z. **146**, 48 (1956).
5) *Bresler, S. E.*, Disc. Faraday Soc. **25**, 158 (1958).
6) *Kauzmann, W.* u. *R. G. Douglas*, Arch. Biochim. Biophys. **65**, 106 (1956).
7) *Steinrauf, L. K.* u. *W. B. Dandliker*, J. Amer. Chem. Soc. **80**, 3833 (1958).
8) *Bro, P., S. J. Singer* u. *J. M. Sturtevant*, J. Amer. Chem. Soc. **80**, 389 (1958).
9) *Benesch, R. E.* u. *R. Benesch*, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 5877 (1955).
10) *Stauff, J.* u. *E. Uhlein*, Kolloid-Z. **143**, 1 (1955).
11) *Stauff, J.* u. *R. Jaenicke*, Kolloid-Z. **175**, 1 (1961).
12) *Moffitt, W.*, J. Chem. Phys. **25**, 467 (1956).
13) *Yang, J. T.* u. *P. Doty*, J. Amer. Chem. Soc. **79**, 761 (1957).
14) *Doty, P.*, Proc. IVth International Congress of Biochemistry 1958, Vol. IX, p. 8 (London 1959).
15) *Uhlein, E.* u. *J. Stauff*, Kolloid-Z. **142**, 150 (1955).
16) *Benesch, R. E.* u. *R. Benesch*, J. Biol. Chem. **216**, 663 (1955) und *Stauff, J.* u. *R. Duden*, Biochem. Z. **331**, 10 (1958).
17) *Waugh, D. G.*, J. Amer. Chem. Soc. **68**, 247 (1946), ibid. **70**, 1850 (1948).
18) *Munk, P., P. Kratochvil* u. *B. Sedláček*, Sympos. Makromoleküle IUPAC, Sekt. VA 5, (Weinheim 1959).
19) *Jirgensons, B.*, Arch. Biochem. Biophys. **74**, 57, 70 (1958).
20) *Stauff, J.*, Kolloidchemie, S. 486ff. (Berlin–Göttingen–Heidelberg 1960).
21) *Katz, S.*, Ph. D. Thesis (Harvard 1950).

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/M.

Aggregation eines disulfid- und sulfhydrylgruppenfreien Proteins

Von R. Jaenicke und J. Stauff

Mit 9 Abbildungen in 18 Einzeldarstellungen, 2 Schemata und 4 Tabellen

(Eingegangen am 31. Juli 1961)

Einleitung

Die Stabilität der sekundären und tertiären Struktur nativer Proteine beruht in erster Linie auf Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophoben Bindungen; daneben sind elektrostatische Kräfte (Salzbindungen), Elektronenverschiebung, *London*sche Dispersion und insbesondere Disulfidbrücken und analoge Brückenbindungen stabilisierend wirksam (1). Die Abschätzung des Gewichts der einzelnen Anteile ist eindeutig bisher nicht möglich.

Die Denaturierung (Änderung der Sekundär- und Tertiärstruktur) setzt als ersten Schritt die Lösung von Wasserstoffbrückenbindungen und, für den irreversiblen Fall, von Disulfidbrücken voraus, die in der Folge intramolekular sowie intermolekular abgesättigt werden können (2, 3, 4). Dieser chemischen Initialreaktion der irreversiblen Aggregation stehen als Ursachen reversibler Aggregation elektrostatische Wechselwirkungen polarer Gruppen und andere physikalische Wechselwirkungen [*Oosawa* (5), *Joly* u. *Barbu* (6)] gegenüber. Der chemische Mechanismus der irreversiblen Aggregation wird dabei evident aus der Möglichkeit der Verhinderung der Aggregation durch spezifisch wirkende chemische Agentien [(4), *Bresler* (7), *Stauff* (8)], die an den reaktiven SH- und SS-Gruppen des Proteinmoleküls angreifen.

Entfernt oder verändert man diese Gruppen in definiertem Ausmaß, so sollte es möglich sein, durch Untersuchung des Aggregationsverhaltens eine Verifikation der Vorstellungen über den reinen Koagulationsmechanismus im Fall des nativen Proteins zu gewinnen, wenn hierunter die Aggregation ohne Beteiligung der Schwefelfunktionen verstanden wird.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde ein Modellsystem ohne SH- und SS-Gruppen in seinem Aggregationsverhalten unter normalen Denaturierungsbedingungen betrachtet. Als Modellsubstanz diente dabei oxydiertes Rinderserumalbumin (RSA_{ox}), dessen Struktur und Verhalten Gegenstand früherer Untersuchungen war [*Stauff* und *Jaenicke* (9)].

RSA_{ox} unterscheidet sich in chemischer Hinsicht vom nativen Serumalbumin (RSA) durch die Oxydation der Sulfhydryl- und Disulfidgruppen zu SO_3H-Gruppen und durch die mehr oder weniger vollständige Oxydation des Methionins und Tryptophans. Von dieser wird man wegen des kleinen Anteils an Methionin und Tryptophan an der Gesamtzahl Aminosäuren im vorliegenden Zusammenhang absehen können, wenn es sich darum handelt, die Aggregation eines Systems zu diskutieren, das zu SH-SS-Reaktionen nicht in der Lage ist. Bezüglich seiner Konfiguration ist das RSA_{ox} infolge der Aufsprengung aller die Helix stabilisierenden Disulfidbrücken als statistischer Knäuel anzusehen, der in seinen Dimensionen von Ladung und Ionenstärke bestimmt wird (9). Demnach kann der in der Aufhebung der Sekundärstruktur bestehende Schritt der Denaturierung im engeren Sinne (1) im vorliegenden System nicht eintreten, wogegen Aggregation resp. Assoziation wie im Falle synthetischer Polyelektrolyte [*Rao* u. *Palit* (10)] oder Seifen [*Hartley*, *McBain* u. a. (11)] erwartet werden können.

Experimenteller Teil

Die Darstellung des RSA_{ox} erfolgte in der an anderer Stelle angegebenen Weise (9). Während dort hauptsächlich das durch Elektrodialyse abgeschiedene Produkt den Untersuchungen zugrundegelegt wurde, wurde zu den vorliegenden Versuchen in erster Linie das lyophilisierte Produkt verwendet, dessen Wassergehalt sich bei Zugrundelegung des Brechungsinkrements

$$\left[\frac{\Delta n}{c} = 0{,}185 \pm 0{,}001\right]_{\lambda = 546\,\mathrm{m}\mu}$$

als Bezugsgröße zu ca. 1% ergibt. Die Analyse des Produktes in der Ultrazentrifuge ergab im wesentlichen

Übereinstimmung mit den a. a. O. angegebenen Daten:

p_H 5,5 Phosphatpuffer $\mu = 0{,}2$ $s_0^{20} = 8{,}46\ sv$
p_H 9,25 Boratpuffer $\mu = 0{,}2$ $s_0^{20} = 2{,}83\ sv$

Die vollständige Oxydation der Disulfidbrücken resultierte aus der SH-Gruppen-Bestimmung nach Reduktion mit $NaBH_4$ (9, 12): Es ließen sich ampèrometrisch keine SH-Gruppen nachweisen.

Das Aggregationsverhalten des RSA_{ox} wurde mit Hilfe der Methode der Lichtstreuung untersucht; als Standard diente natives RSA (trocken „reinst" Behringwerke, Marburg/Lahn, Op. Nrs. 4758 und 22260), das nach 24- bis 40stündiger Dialyse in der Ultrazentrifuge auf Einheitlichkeit geprüft wurde. Die Monodispersitätsanalyse nach der Dreipunktmethode [*Jaenicke* und *Gehatia* (13)] und mit Hilfe der *Archibald*-Methode (14) ließ keine höhermolekulare Komponente erkennen. Es ergab sich

RSA Phosphatpuffer p_H 7,0 $\mu = 0{,}2$

$$s^{20}_{0,w} = (4{,}26 \pm 0{,}02) \times 10^{-13}$$
$$D^{20}_{0,w} = (6{,}18 \pm 0{,}05) \times 10^{-7}$$
$$Vp^{20} = 0{,}732 \pm 0{,}002$$
$$M = 64300 \pm 2\%\,.$$

Die Lichtstreuungsapparatur findet sich in Abb. 1 skizziert. Die mit einer Fächerblende (Divergenz 1,07°) versehene wassergekühlte Quecksilberhochdrucklampe St. 75 (Quarzlampengesellschaft, Hanau) ist zusammen

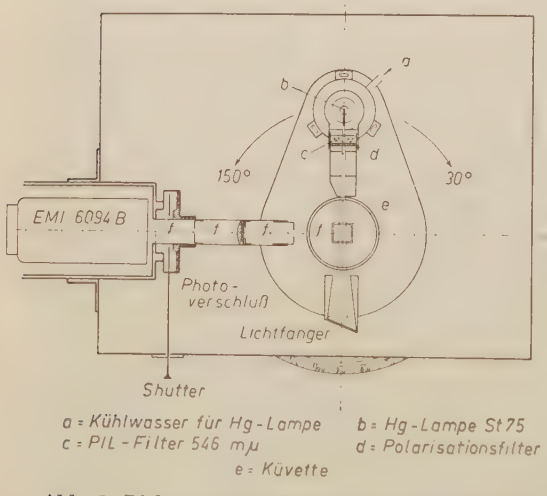


Abb. 1. Lichtstreuungs-Apparatur (Schematische Aufsicht, Maßstab ca. 1:5)

mit dem Lichtfänger um die Küvettenachse drehbar montiert. Der Multiplier (EMI Type 6094 B; betrieben mit Maurer-Netzgerät ca. 1450 V) ist im Abstand $4f$ eines Linsensystems fest so angeordnet, daß auf der Kathode das Streuvolumen abgebildet wird. Zur Anzeige des Photostroms dient ein Knick-Nanoampèremeter (Meßbereich 8×10^{-7} bis 1×10^{-11} Ampère). Zur Prüfung der Symmetrie und Reflexfreiheit der gesamten Anordnung dient Benzol als Standard, dessen Dipolarisationsgrad ϱ_n ein empfindliches Maß für die Qualität der optischen Anordnung darstellt. Es resultiert

$$\varrho_n = 0{,}469 \pm 0{,}009$$

in sehr guter Übereinstimmung mit den tabellierten Werten (15). Im allgemeinen wurde nur die 90°-Streuung gemessen, wobei Küvetten mit quadratischem Querschnitt Verwendung fanden. In einigen Fällen wurde unter Verwendung von Rundküvetten mit aufgekitteten Glasfenstern am Ein- und Austritt des Primärstrahls der Dissymmetriefaktor bestimmt[1]).

Die kinetischen Messungen des Aggregationsverhaltens im Temperaturbereich zwischen 20 und 80 °C wurden in der früher beschriebenen Apparatur (vgl. *Ühlein* und *Stauff* (16), sowie vorstehende Arbeit) vorgenommen. Wegen der übrigen apparativen Hilfsmittel vgl. *Stauff* und *Jaenicke* (9).

Herstellung der Lösungen

Sofern nicht das lyophilisierte RSA_{ox} (L—RSA_{ox}) verwendet wurde, mußte zur Einstellung von p_H und Ionenstärke μ das isoelektrisch oder durch Elektrodialyse gefällte Produkt (E—RSA_{ox}) gelöst und gegen Puffer von definiertem p_H und μ dialysiert werden.

L—RSA_{ox} löst sich nur bei $p_H > 9$ (s. u.). Zur Herstellung von Lösungen definierter Konzentration c und Ionenstärke im p_H-Bereich < 9 mußte daher entweder die wäßrige Aufschlämmung mit sehr wenig NaOH auf $p_H > 9$ eingestellt und die wäßrige Lösung definierter Konzentration zu Pufferlösungen bekannter Ionenstärke aliquotiert werden, oder die eingewogene Menge RSA_{ox} mußte in der alkalischen Pufferkomponente bekannter Ionenstärke gelöst und anschließend mit der anderen Komponente auf den p_H-Endwert eingestellt werden. Je nach dem p_H-Bereich wurden beide Verfahren angewandt.

Die Konzentrationsbestimmung konnte für den Fall des L—RSA_{ox} wegen des bekannten Wassergehaltes (s. o.) gravimetrisch erfolgen. Im Falle des E—RSA_{ox} wurde c aus der Brechungsindexdifferenz zwischen Lösung und Lösungsmittel oder durch Konstantwägung bei 107 °C bestimmt. Als Puffer diente Phosphatpuffer nach *Sørensen*, Acetatpuffer und Boratpuffer mit tridestilliertem Wasser als Lösungsmittel. Zur Herstellung der Verdünnungsreihen wurde *eine* geeichte Pipette verwandt, mit der jeweils 1:1-Verdünnungen hergestellt wurden. Die Konzentrationen variierten dabei zwischen ca. 0,5 und 0,01 g/100 ml; das p_H zwischen p_H 5 und 10; die Ionenstärke zwischen $\mu \geqslant 0$ und $\mu \simeq 2$. Die eingestellten Lösungen wurden jeweils 30′ bei 15000 UpM (26000 g) zentrifugiert (Phywe-Pirouette) und anschließend gemessen. Sofern die Kinetik der Aggregation nicht verfolgt wurde, wurden die Lösungen nach Bestimmung ihrer Anfangsstreuung τ_0^{20} 8 bis 20 h im Wasserbad bei ca. 75 °C gehalten und nach Abkühlen auf 20 °C wiederum die Streuung gemessen.

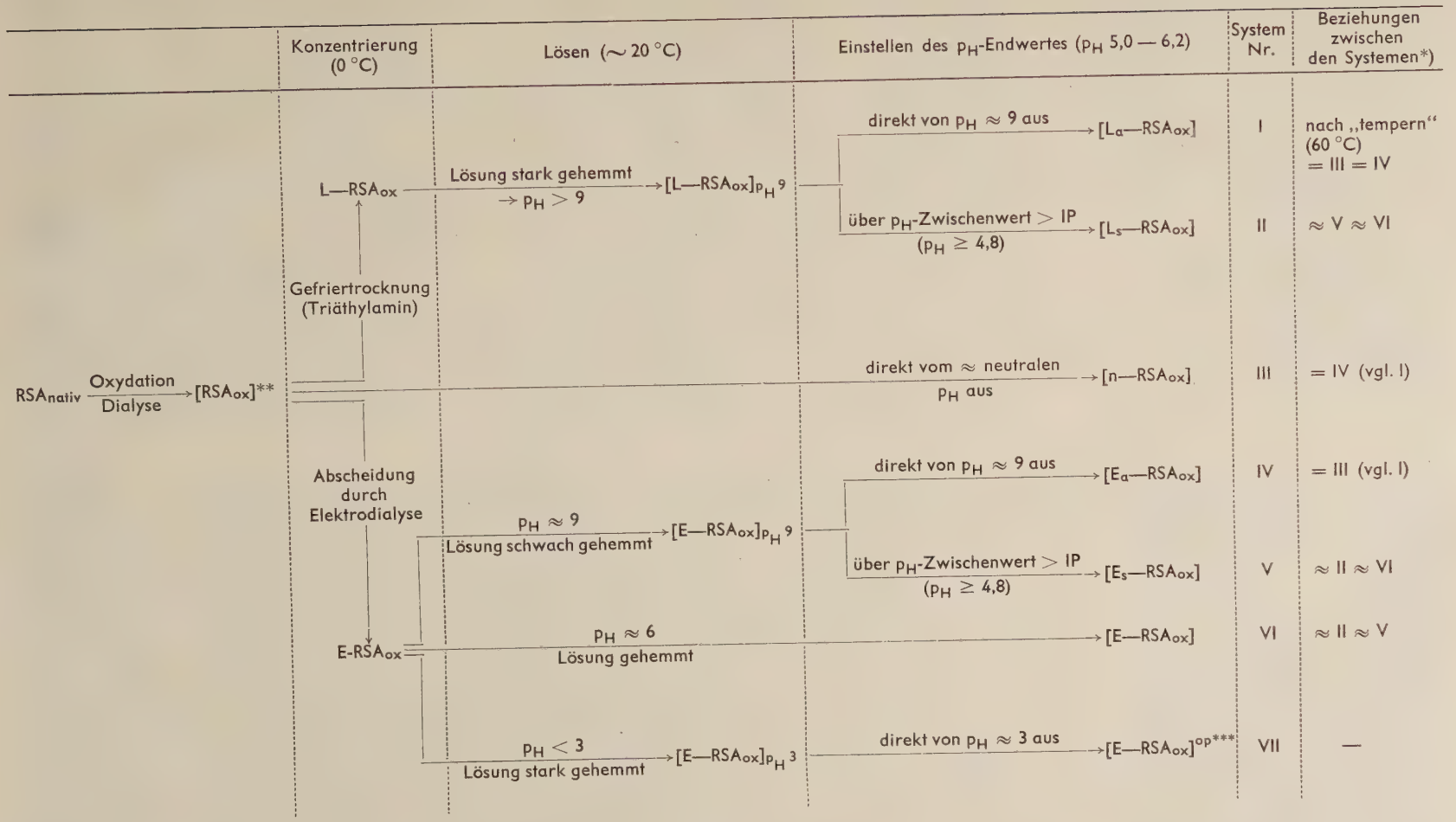
Da sich nach dem zuvor gesagten – je nach dem Lösungsverfahren – eine Vielzahl von Systemen denken läßt, deren Übereinstimmung bzw. Überführung ineinander nicht von vornherein sicher vorausgesagt werden kann, sei die Darstellung der experimentellen Ergebnisse, die schematische Wiedergabe der exakten Herstellungsbedingungen der Lösungssysteme und ihrer experimentell ermittelten Beziehungen zueinander vorangestellt (System-Schema S. 145).

Wegen der Identitäten der letzten Spalte des Systemschemas kann sich die detaillierte Untersuchung auf die Systeme I bis IV beschränken. Bezieht man die Übereinstimmung von I mit III und IV (nach „Tempern" bei ca. 60 °C) mit ein (s. u.), so verringert sich die Zahl der notwendigen Symbole auf zwei: das vom Alkalischen her auf den p_H-Endwert eingestellte „α-RSA_{ox}" und das vom sauren p_H-Bereich her eingestellte „σ-RSA_{ox}").

[1]) Dieser lag in allen untersuchten Fällen bei ≈ 1, so daß auch im aggregierten Zustand der *Rayleigh*-Bereich nicht verlassen wird.

Schema 1

System-Schema



*) Die Übereinstimmungen beziehen sich im wesentlichen auf das Aggregationsverhalten und (in 1. Näherung) auf die Streulicht-Intensität unter vergleichbaren Bedingungen.

**) Die Dialyse des isoelektrisch gefällten, alkalisch gelösten Produktes führt zu annähernd neutralem pH.

***) Beim Durchlaufen des IP ausgefallenes RSA_{ox} löst sich im Entmischungsbereich ($pH \leq 6$) nur bis zur Opaleszenz; Erwärmen führt bei $c > 0{,}1$ g/100 ml zur Ausfällung.

Das Verhalten dieser beiden Systeme im Temperaturbereich zwischen 20 und 80 °C und bei Variation aller sonst das System bestimmenden Parameter ist im wesentlichen Gegenstand der im folgenden darzustellenden experimentellen Ergebnisse.

Experimentelle Ergebnisse

Qualitativ zeigt das RSA_{ox}, wie das vorausgehende Schema beweist, verschiedenes Verhalten, je nachdem L-RSA_{ox} oder E-RSA_{ox} zugrundegelegt wird. Das lyophilisierte Produkt ist zunächst durch eine starke Lösungshemmung charakterisiert, die bewirkt, daß es erst oberhalb p_H 9 aufgelöst werden kann. Die gewonnenen Lösungen sind als Dispersionskolloide anzusehen, d. h. sie sind in ihrem physikalisch-chemischen Verhalten weitgehend von der Vorgeschichte des Systems abhängig. Die Ursache dafür wird deutlich, wenn man die Konfiguration des RSA_{ox}-Moleküls in Betracht zieht (9): Im Zustand hoher Ladung (p_H groß) liegt das Molekül entknäuelt als mehr oder weniger gestreckter beweglicher Faden vor. Wird die Lösung in diesem Zustand abgekühlt, so tritt bei der vorliegenden geringen Ionenstärke des Lösungsmittels mit abnehmender Wärmebewegung der Teilchen eine elektrostatisch bedingte Fixierung in bestimmten Ruhelagen ein, die Thixotropie oder, bei genügend hoher Konzentration, Gelbildung hervorruft. Entwässert man dieses Gel auf dem Wege der Gefriertrocknung[2]), so wird das Endprodukt als mehr oder weniger mizellar angeordnetes oder partiell vernetztes Quasipolymeres des zugrundeliegenden RSA_{ox} vorliegen, das durch erschwerte Löslichkeit charakterisiert ist. Diese Lösungshemmung wird durch Temperaturerhöhung („tempern" bei 60 °C) mehr oder weniger aufgehoben; das resultierende System nähert sich dabei in seinen physikalisch-chemischen Eigenschaften dem E-RSA_{ox}. Wir haben demnach im folgenden – sofern von L-RSA_{ox} ausgegangen wird – die Aufhebung der Lösungshemmung von den molekularen Veränderungen durch Variation der Parameter (Konzentration, Temperatur, Ionenstärke, p_H) zu trennen, um auf der Basis des definierten Primärzustandes die sekundären Veränderungen des Systems durch Wärmeeinwirkung beurteilen zu können.

I. Untersuchung des L-RSA_{ox} bei 20 °C

Entsprechend der obigen Charakterisierung als Dispersionskolloid können für das gehemmte System nur qualitative Angaben gemacht werden, da quantitative Reproduzierbarkeit der physikalisch-chemischen Daten nicht gegeben ist.

Die Sedimentationsanalyse ergibt Hinweise auf starke Polydispersität des Systems (rasche Verbreiterung *eines* verhältnismäßig schnell wandernden Maximums). Dabei resultiert für $\langle s \rangle$ eine außerhalb des Meßfehlers (1%) liegende Abhängigkeit von der angewendeten Winkelgeschwindigkeit, die den Schluß zuläßt, daß mit zunehmender Beschleunigung im Zentrifugalfeld eine partielle Desaggregation eintritt.

Beschleunigung	Sedimentationskonstante (L-RSA_{ox} Phosphatpuffer p_H 5,6; $\mu = 0{,}2$; $c = 0{,}3\%$)
228700 g	$s_{SM} = (18{,}8 \pm 0{,}8) \times 10^{-13}$
63200 g	$s_{SM} = (21{,}3 \pm 0{,}7) \times 10^{-13}$

Die entsprechenden Diffusionskonstanten sind aus dem Überschichtungsdiagramm wegen der starken Sedimentation nur relativ unsicher zu bestimmen. Doch scheinen sie die gegenläufige Abhängigkeit von g zu besitzen, so daß insgesamt für das s/D-Mittel ein Anstieg mit fallender Winkelgeschwindigkeit beobachtet wird. Dieses Phänomen kann eine Erklärung für die mangelnde Übereinstimmung der Sedimentationsdaten mit den Daten der Lichtstreuung bieten, auf die weiter unten näher eingegangen wird.

Die Relativbestimmung des Molekulargewichts $\bar{M}_w$ mit Hilfe der Lichtstreuung und RSA als Standard bei 20 °C zeigt für L-RSA_{ox} eine von der Konzentration abhängige Aggregation im p_H-Bereich < 6 an; die Ionenstärke ist dabei ohne Einfluß auf den Kurvenverlauf. Oberhalb p_H 6 fällt die Streuintensität rasch ab, um dann bei $p_H \sim 9$ meist wieder anzusteigen; die Verhältnisse sind nur bedingt reproduzierbar (vgl. Abb. 2a und 3b).

II. System ohne Lösungshemmung: α- bzw. σ-RSA_{ox}

1. Statisches Verhalten (20 °C)

Beim α- resp. σ-RSA_{ox} tritt der im Falle des L-RSA_{ox} unterdrückte Einfluß von Ladung und Ionenstärke auf die Partikelgröße deutlich hervor. Im p_H-Bereich oberhalb p_H 6,2 zeigt die Streuintensität annähernde Konstanz. Im Bereich p_H < 6,2 steigt die Streuung stark an, wobei mit abnehmender Konzentration der Anstieg mehr und mehr zurückgeht[3]) und sein Beginn sich zu niedrigeren p_H-Werten hin verschiebt (Abb. 2).

Die Untersuchung der Ionenstärkeabhängigkeit der Lichtstreuung mit der Ladung als Parameter ist erschwert durch die starke

[2]) Die Gefriertrocknung erfolgt bei Verwendung von Triäthylamin als Base in dem diskutierten p_H-Bereich.

[3]) Diese Aussagen gelten in analoger Weise für den zum IP symmetrischen stärker sauren p_H-Bereich zwischen p_H 2,5 und 3,5, der jedoch nur in orientierenden Experimenten untersucht wurde.

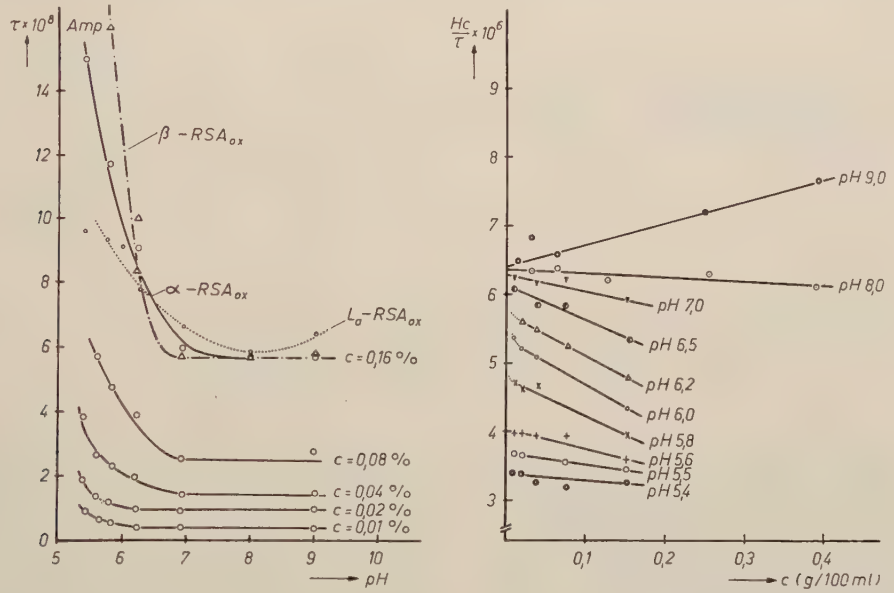
Ionenadsorption von seiten des RSA_{ox}-Moleküls:

Geht man vom elektrolytfreien (ungepufferten) System aus und gibt bei definiertem Ausgangs-p_H steigende Mengen NaCl zu, so tritt eine starke p_H-Verschiebung auf, die von der Entmischungsgrenze ($p_H \sim 6$) bis in den isoelektrischen Bereich ($p_H \sim 4{,}5$) führen kann. Auch bei der Verwendung von *Sørensen*-Puffer geringer Ionenstärke ist der Effekt nicht auszuschließen; auch hier tritt ein p_H-Abfall ein:

$c = 0{,}2$ g/100 ml: bei $\mu = 0{,}05$ $\quad \Delta p_H \approx -0{,}08$,
bei $\mu = 0{,}005$ $\quad \Delta p_H \approx -0{,}12$ etc.,

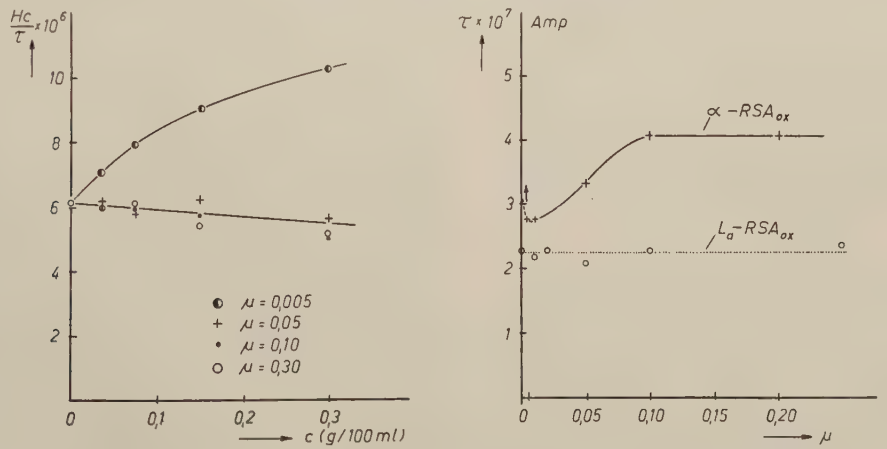
der auf eine stärkere Adsorption des $H_2PO_4^-$-Ions im Vergleich zum HPO_4^{2-}-Ion schließen läßt, während im Falle des NaCl ein Anionenaustausch Cl^- gegen OH^- angenommen werden muß.

Man ist daher zur Ermittlung des Ionenstärke-Einflusses genötigt, die p_H-Änderung durch Bestimmung der $\tau = \tau\,(p_H, \mu, c)$-Abhängigkeiten zu korrigieren oder aber außerhalb des kritischen Bereichs zu messen, in dem der Einfluß der Ionenadsorption stark ins Gewicht fällt ($p_H \sim 6$). Das Ergebnis der Messungen ist in Abb. 3 zusammengefaßt. Es zeigt sich, daß der Einfluß der Ionenstärke auf die Lichtstreuung aus mehreren Ursachen erklärt werden muß. Einerseits tritt – wie der starke Abfall des Virialkoeffizienten auf $B < 0$ [*Kirkwood* u. *Shumaker* (17)] und das Gewicht des primären Salzeffektes im Falle der Sedimentationsanalyse (9) bestätigten – bei minimaler Ionenstärke ($\mu < 10^{-4}$) intermolekulare Anziehung über große Distanzen auf,



a) b)

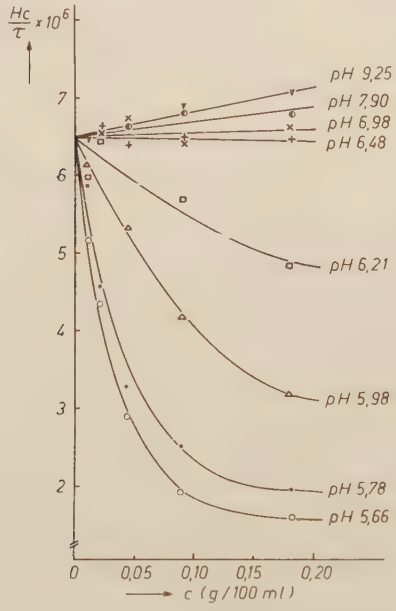
Abb. 2. 90°-Streuung von RSA_{ox} als Funktion des p_H: 20 °C. a) τ_0^{20} und τ_∞^{20} als Funktion des p_H ($\mu = 0{,}2$; c [g/100 ml] als Parameter). ●···● L_a-RSA_{ox}; ○——○ α-RSA_{ox}; △–·–·–△ β-RSA_{ox}. b) Hc/τ_0 vs. c für α-RSA_{ox} (τ_0^{20}; $\mu = 0{,}2$; p_H als Parameter)



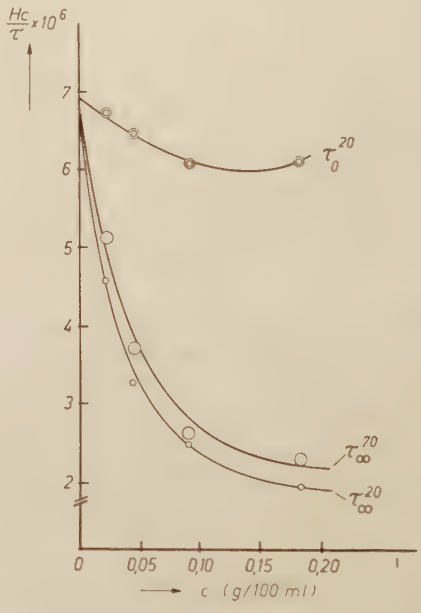
a) b)

Abb. 3. 90°-Streuung von RSA_{ox} als Funktion der Ionenstärke: 20 °C. a) Hc/τ_0 vs. c für α-RSA_{ox} (τ_0^{20}; p_H 6,1; μ als Parameter). b) τ_0^{20} vs. μ für L_a-RSA_{ox} (punktierte Gerade) und α-RSA_{ox} (ausgezogene Kurve). Der Pfeil deutet für den der Messung nicht zugänglichen Bereich $\mu < 10^{-3}$ den Anstieg für $\mu \to 0$ an, der aus der Abscheidung durch Elektrodialyse gefolgert werden muß

die bei nicht zu großer Ladung des Moleküls zur Aggregation führt (vgl. die Abscheidung durch Elektrodialyse). Das anschließend an diesen Bereich durchlaufene Minimum der Streuintensität läßt sich als Folge äußerer Interferenz der durch elektrostatische Wechselwirkungen im „verwackelten Gitter" fixierten Streuzentren erklären (18). Der weitere Verlauf mit steigender Ionenstärke ist dann als Einsalz-Effekt durch Ausbildung der elektrischen Doppelschicht und bei hoher Ionenstärke ($\mu > 0{,}5$) wiederum als Aussalz-Effekt (wahrscheinlich durch Dehydratisierung) zu erklären; er ist im gesamten untersuchten p_H-Bereich zu beobachten. Wie ein Vergleich mit den entsprechenden Messungen am nativen RSA zeigt (19), wird für die $\tau - \mu$-Abhängigkeit mit Ausnahme des Aggregationseffektes bei $\mu \to 0$ analoges Verhalten beobachtet.



a)



b)

Abb. 4. 90°-Streuung von RSA_{ox}: stationärer Zustand. a) Hc/τ_∞ vs. c für β-RSA_{ox} (τ_∞^{20}, nach 8 h 70 °C; $\mu = 0{,}2$; p_H als Parameter). b) Hc/τ vs. c aus τ_0^{20}, τ_∞^{70} und τ_∞^{20}. Die beiden unteren Kurven entsprechen den reversiblen $\bar{M}_w$-Gleichgewichtseinstellungen für 20 und 70 °C

Stellt man nun den für RSA berechneten Wert für $\lim_{c\to 0} \frac{Hc}{\tau}$ demjenigen für RSA_{ox} gegenüber, so ergibt sich trotz der Übereinstimmung von s/D der beiden Substanzen in der Ultrazentrifuge (9) ein erheblicher Unterschied:

RSA_{nativ}

p_H 5–9; $\mu = 0$–$0{,}3$ $\lim \frac{Hc}{\tau} = 14{,}5 \times 10^{-6}$ (entsprechend $M \equiv 69000$)

$[\alpha\text{-}RSA_{ox}]^{20\,°C}$

p_H 7–9; $\mu = 0{,}2$ $\lim \frac{Hc}{\tau} = (6{,}4 \pm 0{,}6) \times 10^{-6}$,

der für α-RSA_{ox} Dimerisation nahelegt, die im Zentrifugalfeld aufgehoben wird.

Einen Ansatzpunkt für eine derartige Hypothese bietet die oben erwähnte Abhängigkeit der Sedimentationsdaten von der Winkelgeschwindigkeit, doch kann eine eindeutige Erklärung zunächst nicht gegeben werden, zumal die Extrapolation der Hc/τ vs. c-Kurven ebenso wie der $\Delta n/c$ vs. c-Abhängigkeit auf $c = 0$ nicht völlig eindeutig ist (9). Schließlich könnte auch die starke Ionenadsorption des RSA_{ox} (s. o.) für die Abweichungen von gewisser Bedeutung sein (vgl. auch Temperatur-Effekt S. 151).

2. *Dynamisches Verhalten im Temperaturbereich zwischen 20° und 80 °C*

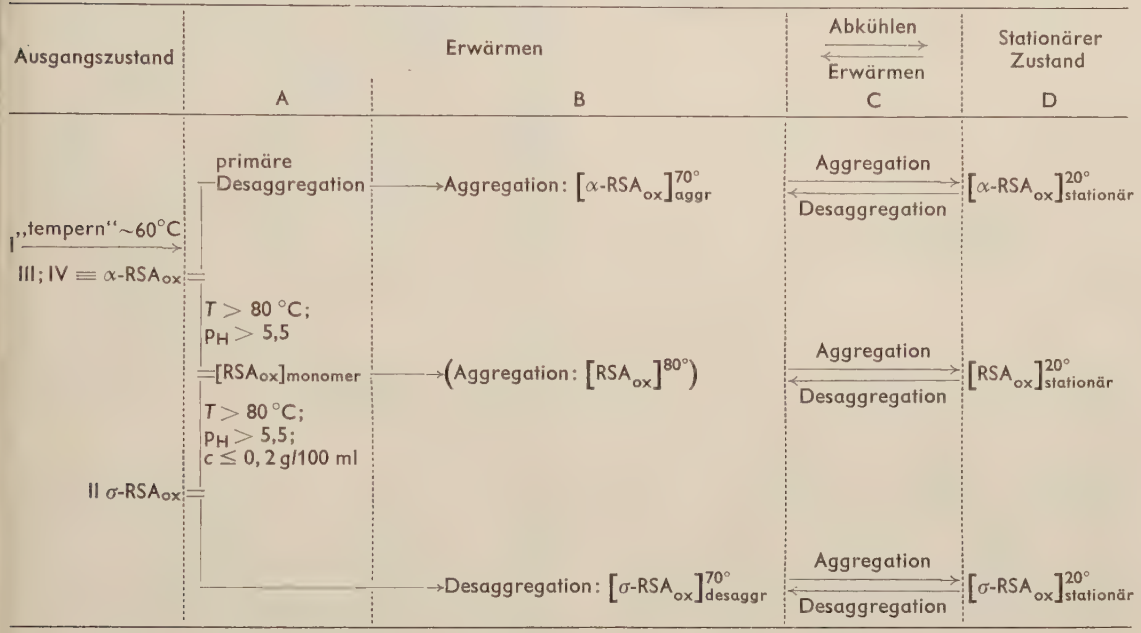
2a. Entmischungsgebiet

Die Untersuchung des Hitzeeinflusses auf das im vorigen durch seine Lichtstreuungsdaten bei 20 °C charakterisierte RSA_{ox} zeigt, daß das betrachtete System im Bereich des Entmischungsgebietes ($p_H \sim 3$ bis ~ 6) bezüglich der Einstellung seiner stationären Partikelgröße gehemmt ist: Es treten irreversible Änderungen der Streuintensität auf, die auf Aggregation (α-RSA_{ox}) oder Desaggregation (σ-RSA_{ox}) zurückzuführen sind, je nachdem die Einstellung auf den p_H-Endwert vom Bereich größerer oder geringerer Löslichkeit des RSA_{ox} erfolgte (vgl. Aggregations-Schema S. 149). Abb. 5a gibt den zeitlichen Verlauf dieses Vorganges an Hand zweier unter gleichen Bedingungen ausgeführter Versuche wieder. Bei großen Konzentrationen ($c > 0{,}2$ g/100 ml) und $p_H < 6$ tritt bei Annäherung an den p_H-Endwert vom sauren Bereich her vollständige Aus-

Schema 2

Aggregations-Schema

Entmischungsbereich $5{,}0 < p_H < 6{,}2$; $\mu = 0{,}2$; $c \leq 0{,}8$ g/100 ml (vgl. System-Schema S. 145)



$$[\alpha\text{-RSA}_{ox}]^{20°}_{stationär} \approx [\sigma\text{-RSA}_{ox}]^{20°}_{stationär} \geq [RSA_{ox}]^{20°}_{stationär} \equiv \beta\text{-RSA}_{ox}$$

fällung ein, und Kurve 1 wird nicht beobachtet. Treten beide Kurven auf, so zeigt die Streuung nur im Falle hoher Temperatur (≈ 75 °C) annähernde Koinzidenz der Asymptoten, die als Endwert der Hitzeaggregation anzusehen sind. Bei niedrigen Temperaturen nähern sich die Kurven, ohne im Bereich vernünftiger Meßzeiten einen gemeinsamen Grenzwert zu erreichen. Abkühlen auf 20 °C führt für beide Systeme (α-RSA$_{ox}$ und σ-RSA$_{ox}$) zu starker Aggregation.

Es ergeben sich demnach bei Betrachtung des gesamten zeitlichen Verlaufes der Aggregation (bzw. Desaggregation) die im obigen Aggregations-Schema dargestellten 4 Abschnitte (vgl. Abb. 5a):

A. Dem Ausgangszustand (τ_0^{20}) folgt zunächst ein der Temperaturdifferenz proportionaler, den reinen Temperatureffekt auf Brechungsindex bzw. Dichte mehr oder minder stark überschreitender Abfall der Streuung[4]), der als primäre Desaggregation angesehen werden muß.

B. Zu dieser Desaggregation tritt in steigendem Maße Aggregation in Konkurrenz, die zu einem quasistationären Zustand der Aggregation bei einer gegebenen Temperatur führt. Diese Aggregation erweist sich im thermodynamischen Sinne als irreversibel und kann nur rückgängig gemacht werden, wenn man durch Änderung des p_H („Lösen") einen dem gehemmten Ausgangszustand entsprechenden Zustand wiederherstellt.

[4]) Dieser Abfall ist für den Fall des σ-RSA$_{ox}$ durch die Desaggregation im gesamten Zeitintervall der Erwärmung verdeckt, so daß hier nur ein Desaggregationsbereich bei hoher Temperatur und im Aggregationsbereich bei Abkühlung resultiert.

C. Der nachfolgende Aggregations-Effekt beim Wiedereinstellen der Anfangstemperatur kann – im Gegensatz zu B – durch Temperaturerhöhung völlig reversibel wieder rückgängig gemacht werden, so daß hier bei wiederholtem Erwärmen und Abkühlen die in Abb. 5b wiedergegebene Kurve (vgl. auch Tab. 1) resultiert. Die sich ergebenden Extremalwerte der Streuung entsprechen dabei einerseits dem stationären Zustand (τ_∞^{20}, „β-RSA$_{ox}$" s. u.) und andererseits einem für die betreffende Temperatur charakteristischen mittleren Aggregationsgrad.

D. Der bei genügend langer Erhitzungsdauer nach dem Abkühlen erreichte stationäre Zustand (τ_∞^{20}) ist dadurch gekennzeichnet, daß er für α-RSA$_{ox}$ und σ-RSA$_{ox}$ übereinstimmt; das gleiche gilt für das oberhalb 80 °C sich einstellende System, sofern ausreichend lange (> 15′) erwärmt wird.

Die Aggregationsgeschwindigkeit ist außer von der Temperatur stark vom p_H abhängig (Abb. 6a, b). Die Ionenstärke scheint im Bereich zwischen $\mu \sim 0{,}05$ und $\sim 0{,}3$ ohne merkbaren Einfluß zu sein (Abb. 6c). Bei $\mu < 0{,}05$ ist auf Grund der p_H-Verschiebung beim Erhitzen eine eindeutige Messung nicht möglich. Versucht man den Einfluß der p_H-Verschiebung nach kleineren Werten hin mit Hilfe der gemessenen τ-p_H-Abhängigkeit zu korrigieren, so ergibt sich, daß im Bereich $\mu \sim 10^{-3}$ keine Aggregation einzutreten scheint. Bei großen Ionenstärken tritt im gesamten gemessenen p_H-Bereich beschleunigte Aggregation durch Aussalzung ein.

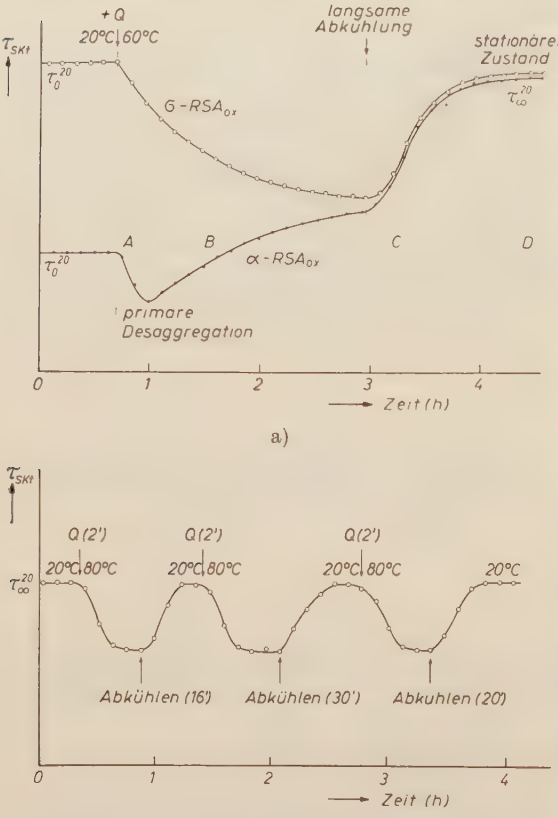


Abb. 5. a) Zeitlicher Verlauf der Aggregation resp. Desaggregation für α-RSA$_{ox}$ und σ-RSA$_{ox}$ (c = 0,1 g/100 ml; p_H 5,80; μ = 0,2) +Q: Die Temperatureinstellung von 20 auf 70 °C erfordert ≈ 2'. b) Reversibilität des Aggregationsschrittes C: β-RSA$_{ox}$ (c = 0,09 g/100 ml, p_H 5,63; μ = 0,2) Vgl. Tab. 1

Die Kinetik der Aggregation läßt sich – wenn man der Berechnung die Anfangsneigung im Aggregationsgeschwindigkeits-Diagramm (mit c als Parameter) zugrundelegt – mit befriedigender Genauigkeit (vgl. die doppelt-logarithmische Auftragung in Abb. 7b) als Reaktion 2. Ordnung beschreiben (Abb. 7). Die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante läßt sich in Form der *Arrhenius*schen Gleichung darstellen (Abb. 7c), Die p_H-Abhängigkeit der resultierenden Aktivierungsenergie, die sich auf Grund der Undefiniertheit der molaren Konzentrationen im Aggregationszustand nur in willkürlichen Einheiten angeben läßt, führt zu dem in Abb. 7d wiedergegebenen steilen Anstieg von E_A nach der Entmischungsgrenze hin; die Lage der Asymptoten-Abszisse ist dabei von Konzentration und Ionenstärke mitbestimmt.

Nach dem zuvor gesagten existiert keine kritische Konzentration der Aggregation im Sinne der Assoziation amphiphiler Kolloide (Seifen) (11); vielmehr sind die Streuwerte und deren zeitliche Veränderung über die Grenze der Meßbarkeit auf c = 0 extrapolierbar.

Die Darstellung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante im *Arrhenius*-Diagramm (Abb. 7c) ergibt ein plötzliches Abbrechen des linearen Verlaufs oberhalb 75 °C. Bis 70 °C wird ein stetiger Anstieg der Aggregationsgeschwindigkeit beobachtet, der einem mit steigender Temperatur wachsenden primären Desaggregationseffekt symbat verläuft. Diese – im Aggregationsschema (S. 149) als Schritt A aufgeführte – Auflösung labiler Aggregate zugunsten mit wachsender Geschwindigkeit neu gebildeter stabilerer erreicht bei ∼ 75 °C eine Grenze, oberhalb der die Aggregation zurückgeht oder verschwindet. Offenbar wird hier die kinetische Energie ausreichend groß, um die Bindung zwischen den bei tieferer Temperatur gebildeten Aggregaten zu lösen. Der resultierende Desaggregationseffekt führt zu Streuwerten in der Größenordnung der Monomerenstreuung (≈ τ_{RSA}); Abkühlung auf 20 °C führt zu einem Streuwert (τ_∞^{20}), der je nach dem p_H-Wert τ^{20} mehr oder weniger stark überschreitet. Der Desaggregations-Aggregations-Mechanismus ist – wenn man vom schwachen

Tabelle 1

Streuwerte von α-RSA$_{ox}$ bei wiederholtem Erwärmen und Abkühlen
τ_0^{20} Anfangsstreuung; τ^T Streuung bei T °C; τ_∞^{20} Endstreuung (20 °C)

c (g/100 ml)	Medium, (Puffer)	τ_0^{20}	τ^{80}	τ^{20}	τ^{80}	τ^{20}	τ^{80}	τ_∞^{20}
0,18	Phosphat p_H 5,8 μ = 0,2	40,7	64,7	100	63,2	98	64,6	99,5
0,09	Phosphat p_H 5,8 μ = 0,2	20,8	19,5	27,5	18,6	27,4	18,5	27,4
0,18	Phosphat p_H 7,0 μ = 0,2	25,9	15,6	26,4	14,1	26,0	15,0	26,4
0,18	Borat/HCl p_H 9,0 μ = 0,2	27,2	13,9	28,0	13,6	27,6	14,0	27,0
0,10	Phosphat p_H 5,6 μ = 0,2 + 0,1% Formaldehyd	38,4	38,0	40,6	38,3	41,7	38,3	42,3
0,10	Phosphat p_H 5,6 μ = 0,2	39,0	70,5	> 100	68,0*)	89	66,4	82

*) + 0,1% Formaldehyd bei 80 °C.

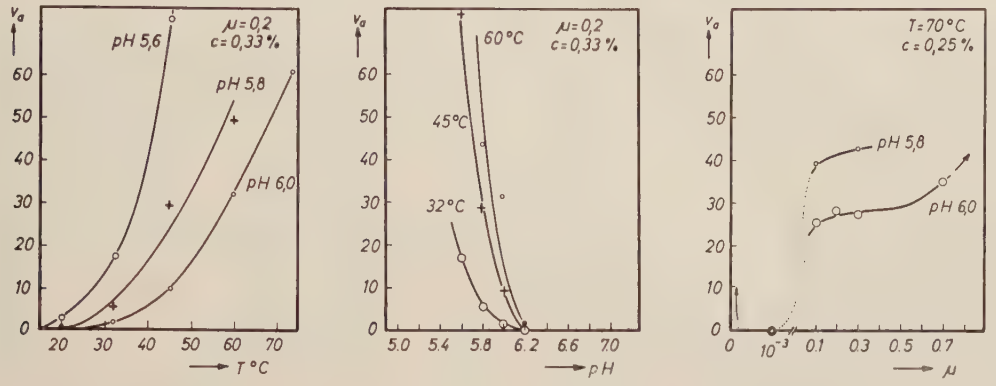


Abb. 6. Aggregationsgeschwindigkeit $v_a \sim \left(\frac{\Delta\tau}{\Delta t}\right)_{\mathrm{Skt}}$ von $\mathrm{RSA_{ox}}$ als Funktion von Temperatur, Ladung und Ionenstärke. a) v_a vs. T (c = 0,33 g/100 ml; μ = 0,2; p_H als Parameter). b) v_a vs. p_H (c = 0,33 g/100 ml; μ = 0,2; T als Parameter). c) v_a vs. μ (approximativ) (c = 0,25 g/100 ml; T = 70 °C; p_H als Parameter). Der Pfeil deutet die Aggregation bei $\mu \to 0$ (Elektrodialyse) an

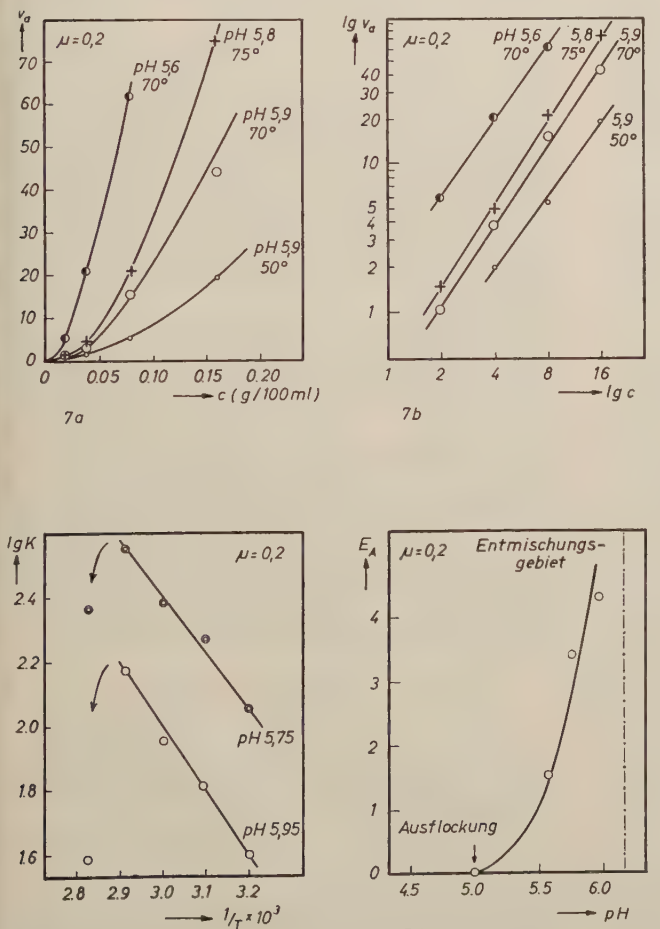


Abb. 7. a) Aggregation von $\mathrm{RSA_{ox}}$ als Reaktion 2. Ordnung. b) doppelt-logarithmische Auftragung von a). c) Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k als Funktion der Temperatur (*Arrhenius*-Diagramm). d) Aktivierungsenergie E_A der Aggregation als Funktion des p_H

linearen Anstieg der τ-Zeit-Kurve im „Aggregations-Gleichgewicht" absieht – reversibel, so daß der resultierende Zustand des Systems als stationär angesehen werden kann (s. § 2c).

2b. Bereich hoher Ladung

Das zuvor beschriebene Verhalten beschränkt sich im wesentlichen auf den Entmischungsbereich. Oberhalb $p_H \sim 6$ und unterhalb $p_H \sim 3$ tritt unter den angegebenen Bedingungen im Temperaturintervall zwischen 20 und 80 °C keine Aggregation in Erscheinung, wenn man vom Aussalzeffekt bei $\mu > 0{,}5$ und von der Aufhebung primärer Aggregate bei Erhöhung der Temperatur absieht, wie sie im vorigen angedeutet wurde. Dieser der Aggregation im Entmischungsbereich vorausgehende reversible Schritt tritt auch im Bereich hoher Ladung auf und führt im stationären Zustand (~ 80 °C) zu guter Übereinstimmung mit der Streuung des nativen RSA, wenn man den vom RT-Term der Trübungsgleichung herrührenden Abfall von τ bei Extrapolation von der Aggregationsgrenze des nativen RSA (54 °C) auf ca. 80 °C berücksichtigt (Tabelle 2). Danach kann die obige Annahme, α-$\mathrm{RSA_{ox}}$ liege bei Zimmertemperatur in Form labiler Assoziate vor, die durch die Wärmebewegung oder Scherkräfte in die Monomeren

Tabelle 2

Vergleich der Streuwerte $\lim_{c\to 0} \frac{Hc}{\tau}$ für RSA und RSA_{ox}. (Lösungsmittelstreuung korrigiert: $\tau = \tau_{Lg} - \tau_{LM}$

	Medium (Puffer)	p_H; μ	$\left[\lim_{c\to 0} \frac{Hc}{\tau}\right]^{T\,°C}_{546\,m\mu}$	$\left[\frac{\Delta n}{c}\right]^{25\,°C}_{546\,m\mu}$	$\overline{M}_w$
RSA	Phosphat	p_H 7 $\mu = 0{,}2$	$1{,}45 \times 10^{-5}$ 80 °C (extrapoliert)	$0{,}185_4$*)	$\equiv$ 69000**)
RSA_{ox}	Phosphat	p_H 7 $\mu = 0{,}05$	$\approx 1{,}60 \times 10^{-5}$ 80 °C	0,185	(75000)
	Phosphat	p_H 7 $\mu = 0{,}2$	$1{,}34 \times 10^{-5}$ 80 °C		63000
	Borat/HCl	p_H 9 $\mu = 0{,}2$	$1{,}50 \times 10^{-5}$ 80 °C	0,185	70400
	Phosphat + 8 m Harnstoff	p_H 6 $\mu = 0{,}2$	$\approx 1{,}41 \times 10^{-5}$ 20 °C		(66200)
	Phosphat + 60 Vol.-% Chloräthanol	p_H 6 $\mu = 0{,}2$	$1{,}39 \times 10^{-5}$ 20 °C		65200
	Phosphat + 25 Vol.-% Dioxan	p_H 5,6 $\mu = 0{,}2$	$1{,}37 \times 10^{-5}$ 40 °C		64000

*) *Halwer, Nutting, Brice* (20).
**) *Waugh* (21).

aufgespalten werden, als plausible Ursache der früher erwähnten Diskrepanz der Hc/τ-Grenzwerte angesehen werden. Wieweit bei dieser primären Assoziation elektrostatische Wechselwirkungen, Strukturumwandlung, Solvatation, Ionenadsorption etc. mitspielen, kann zunächst nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, doch weisen die in Tabelle 2 zusätzlich aufgeführten Mehrkomponentensysteme auf derartige Einflüsse hin (s. u.).

2c. Stationärer Zustand: β-RSA_{cx}

Wie die Daten der Tabelle 1 und Abb. 5 zeigen, strebt die Molekülgröße des RSA_{ox} bei der Aggregation einem stationären Wert zu, der – wie in den vorigen Abschnitten gezeigt wurde – seinem Betrage nach von Temperatur, p_H und Ionenstärke abhängt. Der Vorgang dieses Übergangs vom α- in den β-Zustand geht anschaulich aus Abb. 4b hervor. Es zeigt sich, daß im p_H-Bereich oberhalb p_H 6,3 als niedrigste Aggregationsstufe das dimere RSA_{ox} vorliegt, das bei Temperaturerhöhung auf $T > 80$ °C reversibel ins Monomere übergeht. Unterhalb der Entmischungsgrenze steigt der Aggregationsgrad schnell an, um bei $p_H \sim 5$ infolge vollständiger Koagulation unmeßbar große Werte zu erreichen.

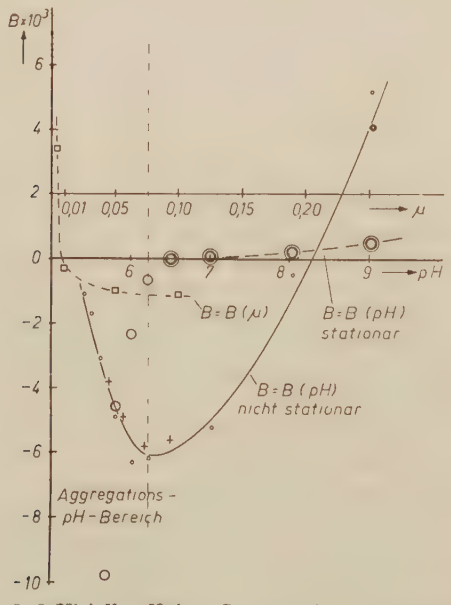


Abb. 8. 2. Virialkoeffizient B aus Hc/τ vs. c als Funktion von p_H und μ. B vs. p_H + ○——○ für α-RSA_{ox} (aus τ_0^{20}; $\mu = 0{,}2$; vgl. Abb. 2b). ○–·–·–○ für β-RSA_{ox} (nach 8 h 70 °C, aus τ_∞^{20}; $\mu = 0{,}2$; vgl. Abb. 4a). Der punktierte Teil der Kurve im Entmischungsgebiet ist durch den Konzentrationseinfluß auf die Aggregation bestimmt. B vs. μ □–·–·–□ für β-RSA_{ox} (nach 2 h 75 °C, aus τ_∞^{20}; p_H 6,1)

Für den Bereich hoher Ladung ($p_H > 6{,}3$) genügt auf Grund der linearen Abhängigkeit von Hc/τ und c (Abb. 4) die einfache Virialgleichung zur Beschreibung der Verhältnisse: $\overline{M}_w$ ist konstant $\left(\bar{p}_w = \frac{\overline{M}_w}{M_0} \approx 2\right)$, die c-Abhängigkeit von Hc/τ beruht auf Änderungen von B (vgl. S. 157f. und Abb. 8). Unterhalb p_H 6,3 bedingt die Aggregation anomales Verhalten, wobei unter der Näherungsannahme $B \approx 0$ der Aggregationsgrad entsprechend der Gleichung

$$\bar{p}_w = \frac{\overline{M}_w(c)}{\overline{M}_{c\to 0}} = \frac{\tau_{c\to 0}}{\tau_c} \qquad [1]$$

mit $\overline{M}_w(c)$ bzw. τ_c als Molekulargewicht bzw. Streuung bei einer herausgegriffenen Konzentration c

und $M_{c\to 0}$ bzw. $\tau_{c\to 0}$ als Molekulargewicht bzw. Streuung bei $c = 0$

unmittelbar als Funktion der Parameter aus den Kurven der Abb. 4 entnommen werden kann.

Über die effektive molekulare Verteilung können zunächst nur mittelbar Schlüsse gezogen werden, wenn man die Parallelität des kinetischen Verhaltens bei Annäherung an den stationären (β-) Zustand zum ent-

sprechenden Verhalten des nativen RSA betrachtet. Hier wie dort erreicht die $\tau_{\infty}^{20°}$-Zeit-Kurve keinen konstanten Endwert, sondern steigt schließlich linear schwach an. Dieses Verhalten kann – wie an anderer Stelle gezeigt werden soll – auf eine rückläufige Reaktion entsprechend dem Schema

$$P_2 + P_3 \rightarrow P_1 + P_4 \qquad [2]$$

zurückgeführt werden[5]).

Bei einer derartigen Umordnung von Aggregaten nimmt das Gewichtsmittel

$$\bar{m}_w = \frac{\sum_i Z_i \, m_i^2}{\sum_i Z_i \, m_i} \qquad [3]$$

zu. Der stationäre Zustand wäre dann als Gleichgewichtszustand dieses Aggregations-Desaggregations-Vorganges zu erklären.

Welcher Art die dabei wirksamen Kräfte sind, läßt sich in gewissem Maße aus Aggregationsversuchen abschätzen, bei denen durch spezifisch wirksame Zusatzkomponenten bestimmte physikalische oder chemische Wechselwirkungen ausgeschlossen bzw. gefördert werden.

2d. Zusatzkomponentenversuche

Die im folgenden kurz erläuterten Versuche dienen der Beantwortung der Frage nach den möglichen Ursachen der am RSA_{ox} beobachteten Aggregationserscheinungen. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß in aliquoten Anteilen jeweils die Lösung ohne Zusatz zusammen mit 5 Lösungen gleicher Konzentration mit verschiedenen Zusätzen in der Lichtstreuungsapparatur erhitzt und die Kinetik der Aggregation der einzelnen im rotierenden Küvettenblock befindlichen Proben synchron aufgezeichnet wurde.

Die Untersuchung eines möglichen Einflusses auf das Aggregationsverhalten des RSA_{ox} bezog sich dabei

1. auf Kationen verschiedener Wertigkeit,
2. auf bzgl. der Schwefelfunktionen spezifische Agentien,
3. auf die Aminogruppe blockierende Agentien,
4. auf die DK des Mediums herabsetzende Komponenten,
5. auf Komponenten, die die Solvatation beeinflussen,
6. auf mögliche Schutzkolloidwirkungen und
7. auf Detergentien.

Die Ergebnisse der Versuche sind zusammen mit den zugrundeliegenden Aggregationsbedingungen in Tabelle 3 zusammengefaßt. Die Normierung ist dabei dadurch erreicht, daß der Endzustand der Aggregation des RSA_{ox} ohne Zusatz bei vergleichbarem p_H, μ und c gleich 1 gesetzt ist. Der Aggregationsgrad im Ausgangszustand beträgt $\bar{p}_w \approx 2{,}5$, der im stationären Zustand $\bar{p}_w \approx 8$.

Es zeigt sich, daß bei festgehaltenem p_H und μ bei keinem der angewandten Zusätze eine Beschleunigung oder Auslösung der Aggregation hervorgerufen wird. Gegen Variation der Kationen, ebenso wie gegen sulfhydryl-blockierende und disulfid-reduzierende Agentien erweist sich das System als indifferent: Es tritt keine Veränderung des Verhaltens gegenüber Lösungen ohne Zusätze ein. Das gleiche gilt für Gelatine als Schutzkolloid und Natriumdodecylsulfat bzw. Dodecylpolyglykoläther[6]), deren Tendenz, hydrophobe Assoziate zu lösen, hier ohne Wirkung bleibt.

Als die Aggregation hemmend resultiert einerseits Formaldehyd, dessen Wirkung schon in (auf RSA_{ox} bezogen) etwa äquimolarer Konzentration deutlich wird, während bei Zugabe des (auf die molare Konzentration an RSA_{ox} bezogen) etwa tausendfachen Überschusses an Formaldehyd keine Aggregation mehr beobachtet wird. Diese Wirkung kann, da eine Blockierung von SH-Gruppen nicht in Frage kommt (vgl. die Versuche mit anderen SH-blockierenden Agentien in Tabelle 4), nur auf einer Addition an die freien NH_2- resp. NH-Gruppen beruhen (23). Die von *Bresler* (7) angenommene Wechselwirkung der Ascorbinsäure mit der NH_2-Gruppe, die unter den gegebenen Voraussetzungen zu einem der Formaldehydhemmung parallelen Verlauf bei Zugabe von Ascorbinsäure führen sollte, zeitigt keine Änderung des Aggregationsverhaltens gegenüber RSA_{ox} ohne Zusätze; da jedoch die NH_2-Spezifität der Ascorbinsäure nicht als gesichert gelten kann, sind Schlüsse aus diesem Widerspruch nicht möglich.

Eindeutiger ist das Ergebnis der Blockierung der NH_2-Gruppen durch Acetylierung (mit Acetanhydrid) (24) bzw. mit Hilfe von 2,4-Dinitrofluorbenzol (25). Beide Veränderungen führen zur Aufhebung des ampholytischen Charakters des RSA_{ox} und zu einer starken Verschiebung des Bereichs der Unlöslichkeit vom IP des RSA_{ox} zum p_K-Wert der entstandenen Säure hin ($p_K \approx 2{,}5$). In der Nachbarschaft dieses Wertes, d. h. im p_H-Bereich $\leq 5{,}7$ tritt in völlig analoger Weise wie im Falle des nicht NH_2-blockierten RSA_{ox} Aggregation ein, so daß die Reaktion mit der ionisierbaren NH_2-Gruppe als Ursache der Aggregationshemmung durch Formaldehyd nur bedingt in Frage kommt.

Eine andere Möglichkeit zur Hemmung bzw. Aufhebung der Aggregation liegt in der Zugabe von steigenden Anteilen Dioxan oder anderen die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels herabsetzenden Zusätzen oder von 8 m Harnstoff bzw. Chloräthanol, welche die Hydratisierung des Gelösten verändern. In beiden Fällen ergibt sich, sofern die Konzentration des Zusatzes nur groß genug gewählt wird, Monomerisierung des RSA_{ox}, der kein Aggregationsschritt nachfolgt (vgl. Tab. 2).

Diskussion

1. Zusammenfassung der Ergebnisse

Das SH- und SS-freie RSA_{ox} liegt je nach den Lösungsbedingungen in verschiedenen Zuständen vor, die in drei „Substanzen" zu-

[5]) Das Vorliegen des Monomeren mit konstanter stationärer Konzentration kann für den Fall des nativen RSA in der Ultrazentrifuge experimentell nachgewiesen werden.

[6]) Es fand eine Fraktion mit 9–10 (C_2H_4O)-Resten ($M = 609$) Verwendung; ihre kritische Konzentration beträgt nach *Stauff* und *Rasper* (22) 1×10^{-4} m/l.

Tabelle 3

Zusatzkomponenten-Versuche mit RSA_{ox}. Phosphatpuffer $\mu_{eff} = 0{,}2$, $c_g = 0{,}20$ g/100 ml

	Funktion	Zusatzkomponente Z	Konzentration c_z	p_H	Aggregation	Bemerkungen
0	Normierung	—	—	5,62	= 1	Aggregationsgrad $p_s \approx 8$
1	Kationeneinfluß	Na^+, Ca^{++}, Fe^{++}, Hg^{++}	$\mu \simeq 0{,}2$	5,62	1	ungepuffert
2	Einfluß auf die Schwefelfunktionen					
	Reduktionsmittel	Thioglykolsäure	0,5 %	5,65	1	
		Cystein	0,2 %	5,60	1	
	Blockierungsmittel	Chinon	0,1 %	5,57	?	stark absorbierender Farbkomplex
			0,02%	5,62	?	,, ,, ,,
		N-Äthyl-Maleinimid	2 Vol.-% kalt ges. Lg.	5,60	1	
3	Reaktion mit NH_2-Gruppe	Ascorbinsäure	4%	5,62	1	
			7%	5,64	1	
			10%	5,70	1	
		Formaldehyd	3×10^{-5} m/L	5,59	0,6	
			1×10^{-4} m/L	5,61	0,4	
			2×10^{-2} m/L	5,50	0,04	
	RSA_{ox} acetyliert	—	—	5,70	~ 0,2	in Acetatpuffer nach 40″ Dialyse
				5,30	~ 0,4	,, ,, ,, 40″ ,,
				4,90	~ 1	,, ,, ,, 40″
	RSA_{ox}-2,4-Dinitrofluorbenzol	—	—	5 55	0,1	in Acetatpuffer
				5,22	0,4	,, ,,
				4,83	> 1	,, ,,
4	DK-Verminderung	Dioxan	6,25 Vol.-%	5,63	~ 1	
			12,5 ,,	5,63	~ 0,7	
			25 ,,	5,61	~ — 0,2	Desaggregation $p \approx 1{,}4$
			35 ,,	5,60	~ — 0,3	Monomerisierung
5	Einfluß auf die Solvatation	Harnstoff	8 m/L	5,70	— 0,3	Monomerisierung ohne Wärmezufuhr
		Chloräthanol	17 Vol.-%	5,66	~ 0,2	,, ,, ,,
			33 ,,	5,63	— 0,2	,, ,, ,,
			50 ,,	5,62	— 0,3	,, ,, ,,
			67 ,,	5,61	— 0,3	,, ,, ,,
6	Schutzkolloid	Gelatine	~ 0,01%	5,61	~ 1	$\Delta\tau$ (Gelatine) bei Erwärmung stört
7	Reaktion mit hydrophoben Gruppen (Detergentien)					
	dissoziierbar	Natriumdodecylsulfat	0,01%	5,60	1	
			0,1 %	5,62	1	
	nicht dissoziierbar	Dodecylpolyglykoläther	10^{-3} m/L	5,65	1	
			10^{-4} m/L	5,63	1	C_K des Detergens
			10^{-5} m/L	5,63	1	
			10^{-6} m/L	5,64	1	

sammengefaßt werden können: Die α-Substanz (vom Bereich höherer Löslichkeit eingestellt), die σ-Substanz (vom Bereich geringerer Löslichkeit eingestellt) und die aus beiden durch Erwärmen irreversibel entstehende β-Substanz. Allen drei Systemen gemeinsam ist die Unlöslichkeit beim IP und der mehr oder weniger hohe Aggregationsgrad bei niederer Temperatur. Im Bereich zwischen $p_H \sim 2{,}5$ und $\sim 5{,}8$ (mit Ausnahme des isoelektrischen Bereiches $p_H \approx 4{,}2$) erweist sich die α- und σ-Substanz bei Zimmertemperatur als bezüglich der Einstellung ihrer stationären Partikelgröße gehemmtes System. Diese Hemmung wird durch p_H-Veränderung in Richtung besserer Löslichkeit oder bei festgehaltenem p_H durch Temperaturerhöhung aufgehoben. Die stationäre Partikelgröße bei Zimmertemperatur liegt – nach der Lichtstreungsmethode bestimmt – im gesamten p_H-Bereich oberhalb der des nativen RSA. Einwirkung von Scherkräften, Zusatz von „entassoziierenden" Komponenten (Dioxan, Chloräthanol, 8 m Harnstoff etc.) und starke Temperaturerhöhung (> 80 °C) führen zum monomeren Molekül.

Beim Erwärmen der α-Substanz oberhalb p_H 6,3 bis 80 °C ändern sich die Streuweite nicht; unterhalb p_H 6,3 tritt – unabhängig von der Konzentration – unter Neueinstellung des Aggregationszustandes Umwandlung in die β-Substanz ein: Die α-Aggregate zerfallen und bilden in langsamer Reaktion β-Aggregate, die annähernd untereinander im Gleichgewicht stehen[7]).

Die Geschwindigkeit der β-Aggregation wird durch ein Zeitgesetz 2. Ordnung beschrieben, wobei die Aktivierungsenergie außer von der Ladung von der Ionenstärke abhängt. Im Bereich kleiner μ ($\mu < 10^{-2}$; Bereich des Einsalzeffekts) unterbleibt die β-Aggregation (E_A groß), während für $\mu \to 0$ (Elektrodialyse) die Hemmung der Aggregation verschwindet ($E_A = 0$); im Bereich hoher Ionenstärke ($\mu > 0{,}5$) ist die Aggregation durch den Aussalzeffekt begünstigt (E_A klein). In dem Zwischenbereich annähernd konstanter Aktivierungsenergie ($10^{-2} < \mu < 0{,}5$) ergibt sich der Mindestwert des Aggregationsgrades (unterhalb 80° C) etwa zu $\bar{p}_w = 2$.

Hat die β-Aggregation bei höherer Temperatur ihren stationären Wert erreicht, so kann der dabei erhaltene Zustand durch Temperaturerniedrigung reversibel in einen entsprechenden bei niederer Temperatur überführt werden. $\bar{p}_w$ ist dabei für den Fall niederer Temperatur höher als bei höherer Temperatur.

Die Unterdrückung der Aggregation im Entmischungsbereich gelingt außer durch die DK des Lösungsmittels resp. die Hydratation des Proteins herabsetzende Komponenten nur mit Hilfe von Formaldehyd (Tab. 3).

2. Mechanismus und Ursache der Aggregation

Zur Beantwortung der Frage nach Mechanismus und Ursache der Aggregation des RSA_{ox} müssen die verschiedenen Möglichkeiten intra- und intermolekularer Bindungen diskutiert werden, die im Bereich der Proteine zur Aggregation Veranlassung geben können. Eine Entscheidung ist dabei auf Grund der großen Anzahl verschiedener funktioneller Gruppen im Proteinmolekül und bedingt durch das wäßrige Medium, in dem die Reaktionen ablaufen, erschwert. Sie wird im vorliegenden Fall in gewisser Weise dadurch erleichtert, daß durch das Fehlen von SH- und SS-Gruppen deren Redoxreaktion als Aggregationsursache nicht mehr berücksichtigt zu werden braucht und daß zudem durch ihre Oxydation die Sekundär- und Tertiärstruktur a priori aufgehoben ist.

Der Aggregationsmechanismus ist zunächst gekennzeichnet durch das Zeitgesetz 2. Ordnung (mit Rückreaktion). Die reaktionsfähigen Stellen zweier Moleküle sättigen sich bei genügender Annäherung der Partikeln ab. Von den beiden damit gegebenen Möglichkeiten – Aggregation bis zur makroskopischen Abscheidung oder Gleichgewichtseinstellung – ist die zweite realisiert, und zwar (gehemmt) reversibel, insofern Verdünnung bei hoher Temperatur einen Abfall der Trübung um einen den Verdünnungseffekt übertreffenden Anteil hervorbringt, der nur als Desaggregation erklärt werden kann.

Wegen der im RSA_{ox} bereits vorhandenen völligen Unordnung der Peptidkette kann die Aggregation nicht wie im Falle nativer Proteine auf eine vorausgehende Denaturierung zurückgeführt werden, sondern muß andere Ursachen haben, beispielsweise Freiwerden reaktiver Stellen oder Desorption primär adsorbierter Ionen. Beide Prozesse würden eine Änderung des chemischen Potentials und damit der Löslichkeit bedingen und könnten die Fähigkeit zur Aggregation hervorrufen.

Während beim nativen RSA oberhalb p_H 6 eine Redox-Reaktion die Aggregation ver-

[7]) Die σ-Substanz desaggregiert beim Erwärmen und führt zum gleichen Endzustand wie die α-Substanz; sie soll daher nicht weiter erörtert werden.

ursacht, findet beim RSA_{ox} in diesem Gebiet keinerlei Aggregation statt; unterhalb p_H 6 aggregiert das native RSA aus analogen Gründen wie das RSA_{ox}, d. h. ohne Beteiligung der Redox-Reaktion. [vgl. (7), (8b)].

Es bleiben daher als Ursache der Aggregation zu diskutieren:

1. Wasserstoffbrückenbindungen,
2. hydrophobe Bindungen und
3. Salzbindungen (vgl. dazu *Kauzmann* (1)].

Eine Entscheidung zwischen diesen Alternativen ermöglichen die Zusatzkomponentenversuche (vgl. Tab. 3), deren 1. und 2. Gruppe zunächst rein elektrostatische Ursachen kationen-spezifischer Art wie im Falle anorganischer Dispersionskolloide ausschließt und die Irrelevanz der Schwefelfunktionen für die Aggregation bestätigt.

Die Möglichkeit einer Erklärung der Aggregation als Folge von Ionenpaar-Bindungen oder ähnlichen elektrostatischen Kräften, die in der Hauptsache zu Bindungen zwischen NH_2- (Guanidino-, Imidazol- etc.) und COOH-Gruppen führen müßten, erhält durch die Blockierung der Aggregation mit Hilfe von Formaldehyd, der die Funktion des Stickstoffs, Protonen anzulagern, aufhebt, zunächst einiges Gewicht. Doch zeigen die Aggregationsversuche nach Blockierung der freien NH_2-Gruppen durch Acetylierung oder Reaktion mit 2,4-Dinitrofluorbenzol, daß auch nach völliger Beseitigung der einen zur Salzbildung erforderlichen ionischen Gruppe die verbleibende einfache „Säure" in gleicher Weise wie das Zwitterion weiter aggregiert, so daß die Ausbildung intermolekularer Salzbindungen als Ursache der Aggregation nicht in Frage kommt. Hinzu kommt, daß Salzbindungen durch Herabsetzung der DK des Mediums in ihrer Ausbildung bevorzugt werden, während im vorliegenden Fall die Aggregation durch Zugabe einer unpolaren Komponente zur wäßrigen Lösung völlig unterbunden wird. Dieses Verhalten läßt hydrophobe Bindungen als Aggregationsursache vermuten, die im Gegensatz zur Ionenpaar-Bindung durch DK-Erniedrigung geschwächt werden.

Als Kriterien zur Prüfung dieser Hypothese kann der Einfluß von Elektrolyt sowie von Detergentien herangezogen werden. Während wachsende Mengen Elektrolyt durch Herabsetzung der Löslichkeit unpolarer Substanzen in wäßriger Lösung (als solche dürften die hydrophoben Anteile im Proteinmolekül anzusehen sein) die intra- und intermolekulare Absättigung der hydrophoben Gruppen fördern, setzen Detergentien diese Wirkung herab, indem sie sich mit ihrem hydrophoben Ende an dieselben Gruppen anlagern und damit mittelbar deren Solvatation ermöglichen[8]).

Vergleicht man mit diesen Überlegungen das Experiment (vgl. Tab. 3, Abb. 6), so ergibt sich zwar aus der oben erwähnten Wirkung der DK und dem der Voraussage entsprechenden Einfluß der Ionenstärke (Proportionalität von Aggregation und Ionenstärke) völlige Übereinstimmung, doch erweist die Indifferenz des Systems und seines Aggregationsverhaltens gegen dissoziierbare ebenso wie undissoziierbare Detergentien, daß auch hydrophobe Bindungen nicht als Aggregationsursache angesehen werden können.

Somit bliebe abschließend zu prüfen, ob die Aggregation als Folge der Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen widerspruchsfrei gedeutet werden kann. Derartigen Wasserstoffbrücken kann einerseits der Amino- resp. Iminostickstoff als „Protonendonator" dienen (H-Brücken zwischen Peptidgruppen), andererseits können – im sauren p_H-Bereich – auch Carboxylgruppen untereinander oder mit Hydroxylresten (Threonin, Serin) zu solchen Bindungen zusammentreten (1). Der Anteil der letztgenannten Bindungen scheint dabei für die Stabilisierung des nativen Proteinmoleküls nur von untergeordneter Bedeutung zu sein, doch könnten sie im Fall der hier diskutierten Aggregation, die ja im schwach sauren beobachtet wird, zu einem gewissen Teil beteiligt sein, zumal bekannt ist, daß das Auftreten solcher Bindungen die Eigenschaften der dissoziierbaren Gruppen stark modifiziert (es treten p_K-Änderungen von 1 bis 2 Einheiten auf), womit die p_H-Verschiebungen im Verlauf der Aggregationsversuche bei niedriger Ionenstärke in Zusammenhang stehen könnten.

Diskutiert man auf dieser Basis nochmals die Zusatzkomponentenversuche, so zeigt sich, daß sowohl die Formaldehyd-Blockierung, als auch die Versuche mit NH_2-blockierenden Agentien, Dioxan, Harnstoff, Chlor-

[8]) Im Falle der Salzbindung ist, wiederum im Gegensatz zur hydrophoben Bindung, eine Schwächung der Bindung (und damit eine Herabsetzung der Aggregation) durch Elektrolytzusatz zu erwarten, indem hier bei Erhöhung der Ionenstärke um die geladenen Gruppen in ihrer dissoziierten Form eine abschirmende und stabilisierende Ionenatmosphäre im Sinne der *Debye-Hückel*schen Theorie gebildet wird. Das Experiment liefert auch hier ein der Hypothese der Salzbindung entgegengesetztes Ergebnis.

äthanol etc. zwanglos gedeutet werden können: Formaldehyd ist als einziges Reagenz in der Lage, im Verlauf der Addition an die Amino-, Imino-, Guanidino- oder Imidazol-Gruppe den Stickstoff zu blockieren (23)[9]), während im Falle der NH_2-spezifischen Reaktionen mit Acetanhydrid bzw. 2,4-Dinitrofluorbenzol die Aminogruppe nur in die Iminogruppe umgewandelt wird, so daß die Fähigkeit zur Ausbildung von H-Brücken und damit zur Aggregation unvermindert erhalten bleibt. Die die Aggregation völlig unterbindende Wirkung von 8 m Harnstoff entspricht im Rahmen der diskutierten Hypothese der Funktion des Harnstoffs als Denaturierungsmittel nativer Proteine (26). Invers zu diesem Verhalten ist der Einfluß von Chloräthanol, das infolge der eigenen Assoziationstendenz zum Wasser die Ausbildung intramolekularer H-Brücken fördert und stabilisiert[10]), so daß im Verlauf des Erwärmens intermolekulare Bindungen nicht mehr betätigt werden.

Auf die übrigen Hemmungsversuche (Detergentien, SH-, SS-spezifische Reagentien, Schutzkolloidwirkung etc.) braucht in diesem Zusammenhang nicht eingegangen zu werden, da sie als Kriterien für die H-Brückenbindung nicht in Frage kommen. Es bleibt also nur noch die Wirkung des Dioxans zu erklären, das in mittlerer bis hoher Konzentration die Aggregation unterbindet. Diese Eigenschaft könnte auf die der DK-Erniedrigung des Mischlösungsmittels parallelverlaufende „entassoziierende" Wirkung [*Münster* (28)] der unpolaren Komponente auf die polaren Komponenten im System der Lösung resp. des Gemisches auf das Gelöste zurückgeführt werden, wobei diese Vorstellung wegen des Elektrolytcharakters des RSA_{ox} zunächst ungewiß bleibt.

3. *Thermodynamik*

Wie der Einfluß von Ionenstärke und Ladung auf die Aggregation zeigt, sind die Löslichkeitsverhältnisse im vorliegenden System weitgehend analog denen nativer Proteine: Im Ladungsnullpunkt bei Abwesenheit von Fremdionen fällt die Löslichkeit auf ein Minimum. Zunehmende Bindung von Ionen an die geladenen Gruppen mit steigender Ionenstärke stabilisiert die Lösungen unter Erhöhung der Löslichkeit. Bei weiterer Zugabe von Elektrolyt nimmt mit dem Anwachsen des Aussalzeffektes die Aggregationstendenz wieder zu. Andererseits nimmt mit steigender Nettoladung die Löslichkeit zu und die Aggregationstendenz ab.

Für die thermodynamische Betrachtung der Verhältnisse ist wiederum das α-System vom β-System zu trennen.

Im α-System liegen bis zur Grenze des Entmischungsbereiches (p_H 6,2), die durch ein Minimum des 2. Virialkoeffizienten der Mischungsenthalpie B charakterisiert ist (Abb. 8)[11]), labile Aggregate vor, die durch mechanische Einwirkungen oder Temperaturerhöhung aufgehoben werden können. Unterhalb p_H 6,2 bis $p_H \sim 5{,}4$, wo deutliche Entmischung und alsbald Ausfällung beobachtet wird (p_H 5,0), ist das Lösungssystem durch eine ausgesprochene thermodynamische Instabilität gekennzeichnet, so daß seine Existenz nur einer relativ starken Hemmung zuzuschreiben ist. Beseitigt man diese Hemmung durch Erwärmen, so resultiert der β-Zustand des Systems, aus dem eine Rückführung zum α-Zustand nicht möglich ist, woraus thermodynamisch einzig geschlossen werden kann, daß die freie Enthalpie G_α des α-Systems größer sein muß als die des β-Systems G_β.

Im β-Zustand oberhalb p_H 6,3 liegen dimere Aggregate vor, die bei $T > 80$ °C reversibel zum Monomeren dissoziieren. Unterhalb p_H 6,3 und im Temperaturintervall zwischen 20 und 80 °C stellt sich unter der Voraussetzung nicht zu langer Erhitzungsdauer ein Zustand ein, in welchem Aggregate verschiedener Größe miteinander im Gleichgewicht stehen (vgl. § 2c). In diesem Bereich fällt für den aus Hc/τ vs. c gewonnenen 2. Virialkoeffizienten B die Koinzidenz des Anfangspunktes der Aggregation auf der p_H-Skala mit dem Punkt $B = 0$ auf: Im Bereich $B < 0$ tritt Aggregation auf, bei $B > 0$ nicht (Abb. 8).

Hier scheint demnach ein qualitativer Unterschied zum nativen RSA aufzutreten (vgl. *Edsall, Edelhoch, Lontie* und *Morrison* (19)], der, abgesehen vom nicht linearen Verlauf der Hc/τ vs. c-Kurven, in der Vorzeichenumkehr von B bei Variation der La-

[9]) Von der Reaktion mit der SH-Gruppe kann hier abgesehen werden.

[10]) Diese Eigenschaft tritt in der die Helix-Bildung hervorrufenden Funktion des Chloräthanols zutage (27), die sich bei Bestimmung der Drude-Konstante λ_c der Rotationsdispersion des RSA_{ox} in Abhängigkeit vom Chloräthanol-Gehalt (%) in einem stetigen Anstieg von $\lambda_c \cong 225$ mμ (0%) bis auf 256 mμ (80%) äußert.

[11]) Mit Annäherung an den Fällungspunkt nimmt B zu, bleibt aber negativ. Für das Produkt aus B und den zugeordneten $\bar{M}_w$-Werten ergibt sich in diesem p_H-Bereich annähernde Konstanz, die auf eine Proportionalität von B und $1/\bar{M}_w$ schließen läßt.

dung des Moleküls besteht, wogegen die Ionenstärkeabhängigkeit weitgehende Parallelität zeigt (29).

Diskutiert man das Verhalten an Hand der Theorie der Lichtstreuung in Mehrkomponentensystemen (18, 19), so folgt zunächst, daß im Falle der Ionenstärkeabhängigkeit im wesentlichen der *Donnan*-Term ($Z_2^2/2\,m_3$) der Streufunktion

$$\frac{H_2\,c_{g_2}}{\tau} = \frac{1}{M_2} + \frac{1}{M_2^2}\left[\frac{Z_2^2}{2\,m_3} + \beta_{22} - \frac{\beta_{23}^2\,m_3}{2+\beta_{33}\,m_3}\right] c_{g_2} \quad [4]$$

zu B beiträgt: Mit wachsendem μ ($\sim m_3$) sinkt – entsprechend dem Abfall von B in Abb. 8 – das Gewicht dieses Terms ab. Bezieht man die Ladung mit ein, so sollten im Bereich hoher Aufladung durch die zunehmende Abstoßung der Teilchen und die damit verbundene sterische Umwandlung (Übergang Knäuel–gestreckter Faden (9)] positive B-Werte auftreten; dabei müßte sich bei Vorherrschen des *Donnan*-Terms B als Funktion der Ladung Z_2 ($\sim p_H$) durch eine Parabel darstellen lassen. Dies ist, wie Abb. 8 zeigt, im Bereich oberhalb p_H 6,5 näherungsweise der Fall. Daß es nicht exakt gilt, d. h. daß B kleiner ist als dem *Donnan*-Term entspricht, steht in Übereinstimmung mit den Beobachtungen an anderen Systemen (vgl. *Doty* und *Edsall* (30)] und läßt vermuten, daß andere Effekte entgegengesetzten Vorzeichens mit eingehen. Möglicherweise spielt hier die starke Ionenadsorption durch das RSA_{OX}-Molekül eine Rolle (s. o.), deren Effekt jedoch quantitativ nicht bestimmt werden kann, da bei der Titration oder Überführungsversuchen (vgl. *Scatchard, Scheinberg* und *Armstrong* (31)] das Ausgangsprodukt nicht völlig von Ionen befreit werden kann (Abscheidung bei Elektrodialyse), so daß der Anfangsionengehalt als Unsicherheit bleibt.

Über den weiteren Verlauf des Ladungseinflusses auf B in den Entmischungsbereich hinein kann keine Aussage gemacht werden, da hier die Konzentrationsabhängigkeit der Aggregation eine starke Abnahme von B vortäuscht, der keine physikalische Bedeutung im Sinne der obigen Theorie zukommen dürfte. Bis zu einem gewissen Maße könnte dieser Verlauf als Folge der im Bereich der Phasentrennung mehr und mehr Bedeutung gewinnenden β_{22}- und β_{23}-Terme in Gl. [4] gedeutet werden (Wechselwirkung zwischen Protein und Salzkomponente im Medium), doch kann die Unstetigkeit des B-Verlaufs im Bereich des Fällungspunktes unter keinen Umständen auf diesen Einfluß allein zurückgeführt werden.

Die Verhältnisse stehen in vollkommener Analogie zu den von *Steiner* (32), *Doty* und anderen (33) für den Fall des Zn-Insulins beschriebenen, dessen Eigenschaften im Assoziationsbereich qualitativ richtig gedeutet werden können, wenn man den Anstieg von Hc/τ im Grenzbereich $c \to 0$ ausschließlich dem Anwachsen von $\bar{M}_w$ bei Annahme von B = const ≈ 0 zuordnet. Hier wie dort täuscht das konzentrationsabhängige Aggregationsgleichgewicht eine starke Variation von B vor, dessen effektiver Beitrag zum Hc/τ vs. c-Verlauf jedoch nur gering sein dürfte (34).

Wendet man die insbesondere von *Steiner* (32a) entwickelte Theorie auf das Aggregationsgleichgewicht des β-Systems an, so kann man für die einzelnen Polymerisationsschritte das MGW einsetzen.

Ist $[P_1]$ die molare Konzentration des Momomeren (hier des Dimeren vom Partikelgewicht $m \approx 140000$), $[P_2], [P_3]$ usw. die der entsprechenden Polymeren, so gilt

$$\frac{[P_2]}{[P_1]^2} = K_2;\ \frac{[P_3]}{[P_1]\,[P_2]} = K_3;\ \frac{[P_4]}{P_{[1]}\,[P_3]} = K_4 \quad \text{usw.} \quad [5]$$

Für den Gewichtsmittelwert $\bar{p}_w$ des Polymerisationsgrades erhält man

$$\bar{p}_w = \frac{m}{c_g}\left[\frac{x_1\,c_g}{m} + 4\,K_2\left(\frac{x_1\,c_g}{m}\right)^2 + 9\,K_2\,K_3\left(\frac{x_1\,c_g}{m}\right)^3 + 16\,K_2\,K_3\,K_4\left(\frac{x_1\,c_g}{m}\right)^4 + \ldots\right] \quad [6]$$

(c_g = Gewichtskonzentration; x_1 = Anteil (Mol) Monomere im Polymerengemisch.)

x_1 ist durch graphische Integration aus $\bar{p}_w = \frac{\tau_{c\to 0}}{\tau_c}$ entsprechend der Gleichung

$$\ln \frac{x_c}{x_{c\to 0}} = \int_{c\to 0}^{c} \frac{1}{c}\left(\frac{1}{\bar{p}_w} - 1\right) dc\,, \quad [7]$$

die sich durch Differentiation und Integration aus Gl. [6] ergibt, zu gewinnen. Bei Kenntnis von x_1 als Funktion von c können die Konstanten K_i durch ein von *Steiner* angegebenes Verfahren gewonnen werden.

In Tabelle 4 sind einige auf diese Weise berechnete Konstanten und daraus nach $\Delta G_i = -RT \ln K_i$ gewonnene freie Enthalpien aufgeführt. Ebenso findet sich für *ein* System (p_H 5,78) ΔH_2 und ΔS_2 aus $\bar{p}_w$-Werten für 20 und 70 °C ausgerechnet (vgl. Abb. 4b).

Es ergibt sich, daß in der Nähe der Aggregationsgrenze (p_H 6,2) bis zu c_g = 0,18 g/100 ml praktisch nur Dimere (des Dimeren,

Tabelle 4

Daten des Aggregationsgleichgewichts für das β-System. c_g = 0 bis 0,18 g/100 ml; T = 20 °C; μ = 0,2

p_H	K_2	K_3	K_4	K_5	$-\Delta G_2$ kcal	$-\Delta H_2$*) kcal	$+\Delta S_2$*) Claus.	$-\Delta G_3$ kcal	$-\Delta G_4$ kcal	$-\Delta G_5$ kcal
5,66	$21 \cdot 10^6$	—	—	—	10,2	—	—			
5,78	$7 \cdot 10^6$	$4{,}2 \cdot 10^6$	$2{,}4 \cdot 10^6$	$2{,}3 \cdot 10^6$	9,6	5,6	1,47	8,9	8,8	8,75
5,98	$1{,}1 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^5$	0	0**)	8,2	—	—	7,4		
6,21	$0{,}11 \cdot 10^6$	0	0	0	6,8	—	—			

*) Berechnet aus $\bar{\alpha}_w$ bei 70 °C bei der Konzentration 0,04 g/100 ml nach *Steiner* (32a).

**) Im untersuchten Konzentrationsbereich wird c der höheren Polymeren so klein, daß die Konstanten gegen Null streben.

also Tetramere) entstehen; K_3 ist zu klein, um auf diese Weise bestimmt werden zu können, so daß Trimere (Hexamere) kaum vorhanden sein dürften. Bei p_H 5,98 sind Trimere (Hexamere) schon in erheblicher Menge entstanden; bei p_H 5,78 treten auch Tetramere und Pentamere (Okta- und Dekamere) hinzu, usf., bis die Substanz vollständig ausfällt.

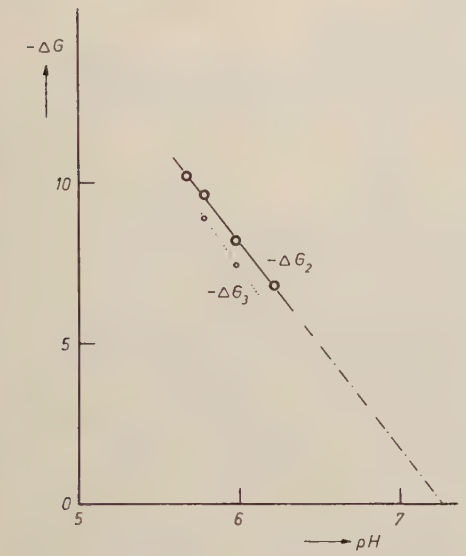


Abb. 9. $-\Delta G$ als Funktion des p_H

Trägt man $-\Delta G_i$ in Abhängigkeit vom p_H auf (Abb. 9), so resultieren Geraden. Diejenige für $-\Delta G_2$ schneidet die Abszisse bei einem Wert ($p_H \sim 7{,}3$), der sich im Stabilitätsbereich des Systems befindet und phänomenologisch durch nichts ausgezeichnet ist. Die Aggregationsgrenze bei $p_H \sim 6{,}3$ scheint demnach nicht auf thermodynamische Besonderheiten des Systems zurückführbar zu sein.

4. Reaktionskinetik

Die Diskussion der kinetischen Phänomene hat wiederum zwei verschiedene Vorgänge zu unterscheiden.

Die Umwandlung der α- in die β-Substanz führt in ihrer ersten Phase zur Desaggregation des α-RSA_{ox} (bis zum Monomeren)

$$P_{\alpha i} \rightarrow P_{\beta 1}\,. \qquad [8]$$

Diese Reaktion (Halbwertszeit $\sim$ 5 min) wurde nicht quantitativ untersucht. Die anschließend einsetzende Aggregations-Reaktion

$$P_{\beta 1} \rightarrow P_{\beta i} \qquad [9]$$

erwies sich als Reaktion 2. Ordnung mit einer deutlich von p_H und μ abhängigen Aktivierungsenergie (vgl. Abb. 7). Dadurch gibt sie sich als typische „Kolloidreaktion" zu erkennen, deren gehemmter Ablauf durch Einflüsse der Ladung der reagierenden Partikeln entscheidend bestimmt wird.

Die erwähnte p_H- und μ-Abhängigkeit der Aktivierungsenergie weist auf die Bedeutung von Ladung und Ionenstärke für die Stabilität des Lösungszustandes der Moleküle hin. Im p_H-Bereich der Aggregationsgrenze steigt die Aktivierungsenergie sehr schnell zu so hohen Werten an, daß die Reaktionsgeschwindigkeit praktisch gleich Null wird; analoges gilt beim Übergang zu kleinen Ionenstärken. Im Grenzbereich zwischen p_H 6,3 und $\sim$ 7,5 besteht nach dem oben gesagten (vgl. auch Abb. 9) keine thermodynamische Ursache der Verhinderung der Aggregation, so daß man hier eine echte durch hohe Aktivierungsenergie bedingte Hemmung anzunehmen hat, die das System stabilisiert (35). Oberhalb p_H 7,5 wird auch aus thermodynamischen Gründen ($\Delta G_2 > 0$) die Aggregation erschwert[12]).

Ebenso wie ΔG_i ist die Aktivierungsenergie und ihre Abhängigkeit von p_H und μ nach den Vorstellungen von *Derjaguin, Verwey-Overbeek* u. a. (36) als Folge eines durch elektrostatische und *van der Waals-Londons*che Kräfte bedingten Abstoßungspotentials ψ in der Umgebung der Partikel erklärbar. Nach dieser Theorie läßt p_H-Erhöhung mit der Nettoladung auch ψ anwachsen, während Ionenstärke-Erhöhung zu einer ψ-Erniedrigung führt. In gleicher Weise ändert sich auch die beobachtete Aktivierungsenergie, so daß ein Zusammenhang zwischen E_A und ψ als sicher angesehen werden kann. Quantitative Berechnungen in dieser Richtung sind jedoch wenig sinnvoll, da die Voraussetzungen der Theorie (z. B. von *Verwey-Overbeek*) hier nicht gegeben sind.

Die Arbeit wurde durch Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, des Bundesministers für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft und des Verbandes chemischer Industrie ermöglicht, denen wir an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen möchten.

[12]) Theoretisch ist selbstverständlich eine Aggregation auch bei $\Delta G_2 > 0$ möglich; es gilt dann $K_2 < 1$. Die Konzentrationen P_i werden jedoch bei einem Wert von $K_2 = 10^{-2}$ schon so klein, daß sie ohne Bedeutung sind.

Zusammenfassung

Zur Untersuchung des reinen Koagulationsmechanismus der Aggregation nativer Proteine wurde an Hand des SH- und SS-freien oxydierten Rinderserumalbumins (RSA_{ox}) als Modellsystem mit Hilfe der Lichtstreuung die Aggregation in Abhängigkeit von den das System bestimmenden Parametern analysiert.

RSA_{ox} liegt bei Zimmertemperatur je nach den Lösungsbedingungen in verschiedenen Aggregationszuständen vor, die thermodynamisch im p_H-Bereich zwischen 2,5 und 6,2 bzgl. der Einstellung ihrer stationären Partikelgröße als gehemmt anzusehen sind. Die Hemmung wird bei festgehaltenem p_H durch Erwärmen irreversibel aufgehoben, wobei sich ein quasistationärer Gleichgewichtszustand ergibt, der als Zustand mehr oder weniger starker Aggregation gekennzeichnet ist; Abkühlung auf Zimmertemperatur führt entsprechend der Temperaturabhängigkeit des Aggregationsgleichgewichts reversibel zu weiterer Aggregation. Im p_H-Bereich außerhalb der Entmischungsgrenze und bei $T < 80$ °C tritt keine Änderung der Partikelgröße auf.

Die nach Aufhebung der Hemmung aus der relativen Streuintensität ermittelte stationäre Partikelgröße bei 20 °C liegt im gesamten p_H-Bereich oberhalb der des nativen RSA. Einwirkung von Scherkräften, Zusatz von „entassoziierenden" Komponenten, sowie Temperaturerhöhung auf $T > 80$ °C führen außerhalb des isoelektrischen Bereiches reversibel zum monomeren Molekül.

Die Geschwindigkeit der irreversiblen Aggregationsreaktion gehorcht einem Zeitgesetz 2. Ordnung. Die Aktivierungsenergie der Reaktion hängt außer von der Ladung von der Ionenstärke ab, wobei für $\mu < 10^{-2}$ infolge des größeren Abstoßungspotentials keine Aggregation beobachtet wird, während sie im Bereich $\mu > 0{,}5$ durch den Aussalzeffekt stark gefördert wird.

Die Ursache der Aggregation dürfte in der Ausbildung intermolekularer H-Brückenbindungen zu suchen sein, da nur für diese Hypothese – im Gegensatz zur Annahme einer Redox-Reaktion oder hydrophober bzw. Salzbindungen – die Aggregationsversuche mit bindungsspezifischen Zusatzkomponenten nicht zu Widersprüchen führen.

Zur qualitativen Beschreibung der Verhältnisse kann einerseits die Theorie der Lichtstreuung in Mehrkomponentensystemen dienen; andererseits erlaubt die Anwendung des MWG auf die Aggregationsgleichgewichte die Berechnung der thermodynamischen Zustandsfunktionen für das Gleichgewicht. Auf diese Weise gelingt es, die von den gleichen Parametern (p_H, μ) abhängigen thermodynamischen und reaktionskinetischen Anteile der Aggregationsreaktion in ihrer Wirksamkeit voneinander abzugrenzen.

Schrifttum

1) *Kauzmann, W.*, in: Advances in Protein Chemistry, Vol. XIV, p. 33f. (New York 1959).

2) *Kauzmann, W.*, in: Mechanism of Enzyme Action (Ed. W. P. McElroy u. B. Glass) p. 70f. (Baltimore 1954).

3) *Joly, M.*, in: Progress in Biophysics Vol. V (1955) p. 168f. (London 1955).

4) *Putnam, F. W.*, in: The Proteins (Ed. H. Neurath u. K. Bailey) Vol. I B, p. 807f. (New York 1953).

5) *Oosawa, F.*, J. Polymer Sci. **26**, 29 (1957).

6) *Joly, M.*, Disc. Farad. Soc. **25**, 150 (1958). *E. Barbu* u. *M. Joly*, Disc. Farad. Soc. **13**, 77 (1953).

7) *Bresler, S. E.*, Disc. Farad. Soc. **25**, 158 (1958).

8a) *Stauff, J.*, Kolloid-Z. **146**, 48 (1956).

8b) *Stauff, J.* et al., Kolloid-Z., vorstehende Arbeit.

9) *Stauff, J.* u. *R. Jaenicke*, Kolloid-Z. **175**, 1 (1961).

10) *Rao, M. L. B.* u. *S. R. Palit*, Proc. Chem. Soc. London 1959, 222, Symp. über Makromoleküle, Wiesbaden 1959, Sektion V A 7.

11) *Stauff, J.*, Kolloidchemie, S. 534f. (Berlin–Göttingen–Heidelberg 1960).

12) *Stauff, J.* u. *R. Duden*, Biochem. Z. **331**, 10 (1958).

13) *Jaenicke, R.* u *M. Gehatia*, Biochim. Biophys. Acta **45**, 217 (1960).

14) *Schachman, H. K.*, Ultrazentrifugation in Biochemistry, p. 182f. (New York, London 1959).

15) *Partington, J. R.*, Advanced Treatise on Phys. Chem. Vol. IV, p. 266 (London, New York, Toronto 1953).

16) *Ühlein, E.* u. *J. Stauff*, Kolloid-Z. **142**, 150 (1955).

17) *Kirkwood, J. G.* u. *J. B. Shumaker*, Proc. Nat. Acad. Sci. US. **38**, 863 (1952). *P. Doty* u. *R. F. Steiner*, J. Chem. Phys. **17**, 743 (1949).

18) *Doty, P.* u. *J. T. Edsall*, in: Advances in Protein Chemistry, Vol. VI, p. 96 (New York 1951).

19) *Edsall, J. T., H. Edelhoch, R. Lontie* u. *P. R. Morrison*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 4641 (1950).

20) *Halwer, M., G. C. Nutting* u. *B. A. Brice*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 2787 (1951).

21) *Waugh, D. F.*, in: Advances in Protein Chemistry, Vol. IX, p. 342 (New York 1954).

22) *Stauff, J.* u. *J. Rasper*, Kolloid-Z. **151**, 148 (1957).

23) *Putnam, F. W.*, loc. cit. (4), p. 931.

24) *Putnam, F. W.*, loc. cit. (4), p. 904.

25) *Alexander, P.* u. *R. J. Block*, Analytical Methods of Protein Chemistry Vol. 2, p. 68 (Oxford, London, New York, Paris 1960).

26) *Schellmann, J. A.*, Compt. rend. Lab. Carlsberg. Sér. chim. **29**, No. 14, p. 223 (1955) und **29**, No. 15, p. 247 (1955).

27) *Doty, P.*, Proc. IVth International Congr. of Biochemistry (1958), Vol. IX, p. 18 (London, New York, Paris, Los Angeles 1959).

28) *Münster, A.*, in: *H. A. Stuart*, Physik der Hochpolymeren Bd. 2, S. 242 (Berlin–Göttingen–Heidelberg 1953).

29) *Doty, P.* u. *R. F. Steiner*, J. Chem. Phys. **20**, 85 (1952).

30) *Doty, P.* u. *J. T. Edsall*, loc. cit. (18), p. 68.

31) *Scatchard, G., I. H. Scheinberg* u. *S. H. Armstrong*, jr., J. Amer. Chem. Soc. **72**, 535, 540 (1950)

32a) *Steiner, R. F.*, Arch. Biochem. Biophys. **39**, 333 (1952).

32b) *Steiner, R. F.*, Arch. Biochem. Biophys. **44**, 120 (1953).

33) *Doty, P.* u. *G. E. Myers*, Disc. Farad. Soc. **13**, 51 (1953). *P. Doty, M. Gellut* u. *B. Rabinovitch*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 2065 (1952).

34) *Steiner, R. F.*, loc. cit. (32a), p. 336; *P. Doty* u. *G. E. Myers*, loc. cit. (33), p. 52.

35) *Stauff, J.*, loc. cit. (11), S. 418f.

36) *Overbeek, J. T. G.*, Kinetics of Flocculation in: *H. R. Kruyt*, Colloid Science Vol. I. (Amsterdam 1952).

Aus dem Deutschen Kunststoff-Institut, Darmstadt

Die Beschreibung der Kettenstruktur von stereoregulären Hochpolymeren und ihre Bestimmung aus der Kern-Spin-Resonanz*)

I. Polymethylmethacrylat

Von U. Johnsen

Mit 9 Abbildungen in 10 Einzeldarstellungen

(Eingegangen am 15. August 1961)

Einleitung

Seit der Synthese stereospezifischer Polymere [1] besteht die Aufgabe, die Taktizität, d. h. die sterische Ordnung in polymeren Ketten zu bestimmen, welche durch die Folge der isotaktischen und syndiotaktischen Polymerisationsschritte festgelegt ist. Die hochaufgelösten Kernresonanzspektren des Polymethylmethacrylates geben unmittelbar die relative Anzahl und damit die Wahrscheinlichkeiten der beiden möglichen Verknüpfungen während der Polymerisation [2].

Damit ist die in den Spektren enthaltene Information jedoch noch nicht völlig ausgeschöpft. Man kann, wie hier gezeigt wird, sogar die Abhängigkeit der Wahrscheinlichkeiten für die beiden taktischen Schritte vom vorhergegangenen Polymerisationsschritt ermitteln. Damit ist es möglich, auch die Kettenstruktur im einzelnen zu bestimmen. Mit Hilfe einer allgemein für taktische Polymere gültigen mathematischen Beschreibung wird die wahrscheinliche Kettenstruktur in Abhängigkeit von den Schrittwahrscheinlichkeiten berechnet. Das Modell enthält sowohl isotaktische wie syndiotaktische Sequenzen. Dabei wird noch zwischen solchen Sequenzen unterschieden, die auf Blöcke mit gleicher sterischer Ordnung folgen, und solchen, denen eine Sequenz mit entgegengesetzter Ordnung vorangeht. Das Modell ist damit eine Erweiterung und Verfeinerung der vorhergegangenen Ansätze [6], [7], [8].

Das Verfahren wird auf zwei Methylmethacrylate angewandt, für welche die gemessenen Wahrscheinlichkeiten für die Schritte und die experimentell ermittelte Taxie angegeben werden. Weiterhin werden die Sequenzlängenverteilungen für die isotaktischen und syndiotaktischen Sequenzen und die mittleren Sequenzlängen berechnet.

*) Vorgetragen am 25. März 1961 während des Makromolekularen Kolloquiums in Freiburg/Breisgau und am 8. Mai 1961 während der Tagung der Holländischen Rheologischen Gesellschaft in Utrecht.

Teil I

1. Die Spektren

Die typischen Spektren zweier extrem taktischer Polymethylmethacrylate zeigt die Abb. 1. Die Linie ganz rechts, die Referenzlinie, gehört zum Tetramethylsilan, das den gelösten Hochpolymeren zugemischt wurde. Gegen dieses Signal ist die Lage der übrigen Linien im Magnetfeld vermessen und in

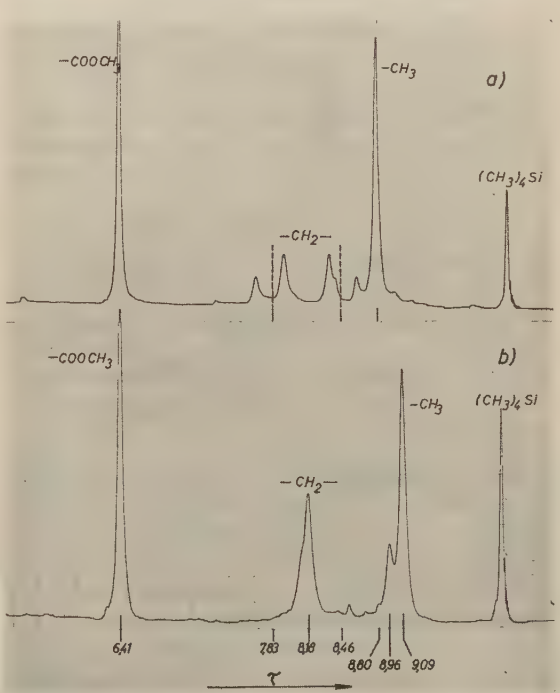


Abb. 1. Polymethylmethacrylat 20 g/l in $CHCl_3$
a) 95% isotaktisch b) 85% syndiotaktisch
Kernresonanzspektrum 56,4 MHz 120 °C

τ-Werten [3] angegeben. Die bereits früher [2], [9], [10], [11] vorgenommene Deutung wird durch die jetzt besser aufgelösten Spektren bestätigt und ergänzt.

Bei $\tau = 6{,}41$ erscheint in beiden Spektren die Resonanz in der Estergruppe $-COOCH_3$.

Die beiden Protonen der Methylengruppe $-CH_2-$ sind magnetisch gleichwertig in denjenigen Kettengliedern, bei denen das an diese Gruppe angebaute Nachbarglied die entgegengesetzte Konfiguration hat wie die vorhergehende, also syndiotaktisch verknüpft ist. Ihre Resonanz (Abb. 1 b) zeigt sich daher in diesen Gliedern in der einen Linie bei $\tau = 8{,}18$.

Eine isotaktische Verknüpfung hebt die magnetische Symmetrie der beiden Protonen auf, so daß jedes für sich zur Resonanz kommt und in den Spektren infolge der Spin-Kopplung ein Quartett [4] erscheint (Abb. 1a). Seine in Abb. 1a eingezeichneten Schwerpunkte liegen bei $\tau = 7{,}83$ und $\tau = 8{,}46$. Die Kopplungskonstante ist

$$J = 14{,}35\ \text{sec}^{-1}.$$

In den extrem taktischen Polymerisaten, deren Spektren die Abb. 1 zeigt, ist der Anteil der „verkehrt" verknüpften Kettenglieder so klein, daß die Resonanzlinien der Methylengruppen in diesen Gliedern apparativ nicht

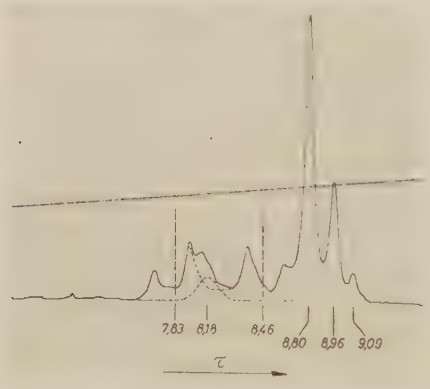


Abb. 2. Polymethylmethacrylat 81% isotaktisch
20 g/l in $CHCl_3$
Kernresonanz-Teilspektrum 56,4 MHz 120 °C

mehr nachgewiesen werden können. Bei Polymerisation mit geringerer Taxie, z. B. in Präparaten mit einem Anteil von 81% isotaktischen Bindungen, ist im Spektrum, wie die Abb. 2 zeigt, die Einzellinie und das Quartett gleichzeitig sichtbar.

Die drei α-Methyl-Resonanzlinien bei $\tau = 8{,}80$, $\tau = 8{,}96$ und $\tau = 9{,}09$, besonders deutlich in Abb. 2 sichtbar, gehören [2] zu α-Methylgruppen in solchen Grundbausteinen, die

a) nach beiden Seiten hin isotaktisch verknüpft sind
($\tau = 8{,}80$)

b) an einem Ende isotaktisch, am anderen syndiotaktisch gebunden sind
($\tau = 8{,}96$)
und solchen, die

c) zwischen zwei syndiotaktischen Schritten liegen
($\tau = 9{,}09$).

Wir nennen diese Grundbausteine isotaktische Einheiten (a), heterotaktische Einheiten (b) und syndiotaktische Einheiten (c).

In den Spektren vorwiegend isotaktischer Polymerisate (Abb. 1a) ist daher die Linie bei $\tau = 8{,}80$ (Fall a) am stärksten, während bei syndiotaktischen Substanzen die Linie bei $\tau = 9{,}09$ (Fall c) die anderen beiden überragt. Die relative Intensität der mittleren Linie (Fall b) mit $\tau = 8{,}96$ ist ein Maß für die Sequenzlängen [2], denn die Sequenzen enden mit einem Paar wechselnder Polymerisationsschritte (Abb. 5). Große Intensität bedeutet daher kleine Sequenzlängen, während geringe Intensität lange Sequenzen anzeigt. Diese qualitative Betrachtung wird im folgenden zu einer quantitativen Bestimmung der Sequenzlängenverteilung erweitert.

2. *Die Wahrscheinlichkeiten der Polymerisationsschritte (Schrittwahrscheinlichkeiten)*

Im Resonanzsignal der Methylen-Gruppe, siehe Abb. 2, entsprechen die Flächen F_s bzw. F_i der Einzellinie bei $\tau = 8{,}18$ bzw. des Quartetts der Anzahl der an isotaktischen bzw. syndiotaktischen Verknüpfungsstellen sitzenden CH_2-Gruppen. Daher geben die Flächen auch ein Maß für die Zahlen N_i und N_s der isotaktischen (i) und syndiotaktischen (s) Verknüpfungen selbst.

Die Wahrscheinlichkeiten p_i und p_s für die beiden Polymerisationsschritte folgen unmittelbar aus den Flächen F_i und F_s. Es ist[1]):

$$p_i = \frac{N_i}{N_i + N_s} = \frac{F_i}{F_i + F_s} \quad p_s = \frac{N_s}{N_i + N_s} = \frac{F_s}{F_i + F_s}. \quad [1]$$

Dabei gilt

$$p_i + p_s = 1.$$

Einen weitaus genaueren und tieferen Einblick in den Aufbau der Kette geben jedoch die drei Linien der α-Methyl-Resonanz. Ihre Flächen seien mit F_{ii}, $[F_{is} + F_{si}]$, F_{ss} bezeichnet. Die Gesamtfläche ist

$$F = F_{ii} + [F_{is} + F_{si}] + F_{ss}.$$

[1]) Die Endglieder, die in den Spektren nicht erfaßt werden, bleiben hier und im folgenden unberücksichtigt.

Wir geben diesen drei Linien und ihren durch die Flächen gegebenen Intensitäten folgende Deutung:

Die Fläche F_{ii} der Linie bei $\tau = 8{,}80$ (Fall a) ist der Zahl N_{ii} derjenigen isotaktischen Polymerisationsschritte proportional, die auf einen isotaktischen Schritt folgen (Abb. 3). Für die Zahl N_{ss} der entsprechenden syndiotaktischen Schritte und der Fläche F_{ss} ($\tau = 9{,}09$, Fall c) gilt das gleiche. Die Fläche $[F_{is} + F_{si}]$ der mittleren Linie (Fall b) ist dagegen der Summe $N_{is} + N_{si}$ der beiden Schrittanzahlen N_{is} und N_{si} proportional. Die Indizes i und s geben dabei von links nach rechts die Schrittfolge an.

Wenn überhaupt Wechselschritte in größerer Anzahl vorkommen, dann ist

$$N_{is} = N_{si}. \qquad [1']$$

Dabei ist es völlig gleichgültig, wieviele gleiche Schritte zwischen den Wechselschritten liegen.

Die Wahrscheinlichkeit p_{ii} dafür, daß während der Polymerisation ein isotaktischer Schritt auf einen gleichen Schritt folgt, ist daher:

$$\left.\begin{aligned} p_{ii} &= \frac{N_{ii}}{N_{ii}+N_{is}} = \frac{F_{ii}}{F_{ii}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]} \\ \text{Für die Wahrscheinlichkeiten } p_{is},\ p_{si} &\text{ und } p_{ss} \text{ gilt analog:} \\ p_{is} &= \frac{N_{is}}{N_{ii}+N_{is}} = \frac{1/2\,[F_{is}+F_{si}]}{F_{ii}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]} \\ p_{si} &= \frac{N_{si}}{N_{ss}+N_{si}} = \frac{1/2\,[F_{is}+F_{si}]}{F_{ss}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]} \\ p_{ss} &= \frac{N_{ss}}{N_{ss}+N_{si}} = \frac{F_{ss}}{F_{ss}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]} \end{aligned}\right\}. \qquad [2]$$

Für die Gesamtwahrscheinlichkeit p_i eines isotaktischen Schrittes, unabhängig vom vorhergehenden Schritt, gilt mit

$$\left.\begin{aligned} N &= N_{ii}+N_{is}+N_{si}+N_{ss} \\ p_i &= \frac{N_{ii}+N_{si}}{N} = \frac{F_{ii}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]}{F} \\ \text{Analog ist:} & \\ p_s &= \frac{N_{is}+N_{ss}}{N} = \frac{F_{ss}+1/2\,[F_{is}+F_{si}]}{F} \end{aligned}\right\}. \qquad [3]$$

Die Wahrscheinlichkeiten erfüllen folgende Bedingungen, die unmittelbar aus den Definitionen [1] und [2] folgen.

$$\begin{aligned} p_i + p_s &= 1 \\ p_{ii} + p_{is} &= 1 \\ p_{si} + p_{ss} &= 1. \end{aligned} \qquad [4]$$

Andererseits sind die Wahrscheinlichkeiten nicht unabhängig voneinander. Es gelten z. B. die Beziehungen

$$p_i = \frac{p_{si}}{p_{is}+p_{si}} \qquad p_s = \frac{p_{is}}{p_{is}+p_{si}}, \qquad [5]$$

die sich sofort aus den Definitionen der Gleichung [2] ergeben, wenn man die Gleichung [1] berücksichtigt.

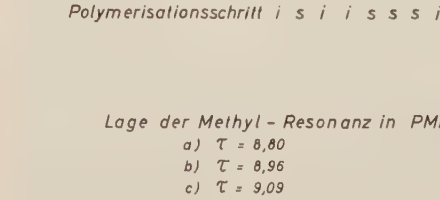

Methyl - Resonanz b b a b c c b b
Konfiguration ....d-d-l-l-l-d-l-d-d-l.....
Polymerisationsschritt i s i i s s s i s
Lage der Methyl - Resonanz in PMMA.
a) τ = 8,80
b) τ = 8,96
c) τ = 9,09

Abb. 3. Die drei Fälle der Methyl-Resonanz in Polymethylmethacrylat

Die Häufigkeiten der verschiedenen Polymerisationsschritte bezogen auf alle Schritte überhaupt geben die Gleichungen [6], welche unmittelbar aus den Gleichungen [2] und [3] folgen.

Es ist:

$$\begin{aligned} \frac{N_{ii}}{N} &= \frac{F_{ii}}{F} = p_i\, p_{ii} \\ \frac{N_{is}}{N} &= \frac{1/2[F_{is}+F_{si}]}{F} = p_i\, p_{is} \\ \frac{N_{si}}{N} &= \frac{1/2[F_{is}+F_{si}]}{F} = p_s\, p_{si} \\ \frac{N_{ss}}{N} &= \frac{F_{ss}}{F} = p_s\, p_{ss}. \end{aligned} \qquad [6]$$

Dabei ist in Übereinstimmung mit Gleichung [5], wie es nach Gleichung [1'] sein muß,

$$p_i\, p_{is} = p_s\, p_{si} = \frac{N_{is}}{N} = \frac{N_{si}}{N}.$$

Mit Hilfe der Gleichungen [6] und [4] lassen sich die in den Gleichungen [2] definierten Wahrscheinlichkeiten aus den Spektren bestimmen, wenn die einzelnen Resonanzlinien so weit aufgelöst werden, daß ihre Flächen planimetriert werden können.

Die hier herangezogene und vom Experiment geforderte Beschreibung ist die Statistik der einfachen *Markoff*schen Ketten (5). Aus Gleichung [4] folgt für

$$\begin{aligned} p_{ii} &> p_{si} \\ \text{auch} & \qquad [7] \\ p_{ss} &> p_{is}. \end{aligned}$$

Diese „günstige Korrelation", bei der sich das isotaktische und das syndiotaktische Wachstum jeweils selbst fortsetzen, also Neigung zur Bildung langer Sequenzen besteht, wird nach den bisherigen Experimenten

meist bei ionischer Polymerisation beobachtet, während der Fall

$$\begin{aligned} p_{ii} &= p_{si} = p_i \\ p_{is} &= p_{ss} = p_s \end{aligned} \qquad [8]$$

die sogenannte *Bernoulli*-Statistik, in der keine Abhängigkeit vom vorhergehenden Schritt enthalten ist, also nur p_i und p_s definiert sind, die radikalische Polymerisation in Substanz beschreibt.

Die Abb. 4 zeigt die nach Gleichung [6] berechneten relativen Intensitäten der drei Methylresonanzen in Abhängigkeit von p_{ii} mit p_{si} als Parameter. Die drei kräftig ausgezogenen Kurven, die schon früher angegeben wurden [2], geben den *Bernoulli*-Fall, $p_{si} = p_{ii}$, während die übrigen Kurven für $p_{si} = 0{,}75\,p_{ii}$ und $p_{si} = 0{,}5\,p_{ii}$ gelten.

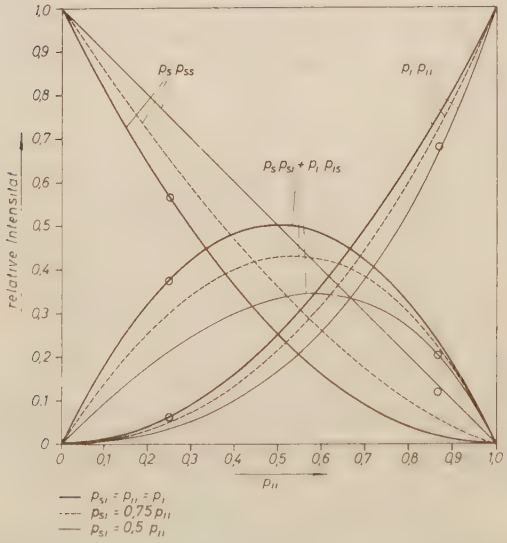


Abb. 4. Relative Intensitäten der Methyl-Resonanz als Funktion der Wahrscheinlichkeiten für die Polymerisationsschritte

Als Beispiel eingezeichnet sind links die drei gemessenen relativen Intensitäten des technischen Polymethylmethacrylates, das den *Bernoulli*-Fall mit $p_i = p_{ii} = p_{si} = 0{,}25$ und $p_s = p_{ss} = p_{si} = 0{,}75$ realisiert.

Die weiteren drei Meßpunkte liegen dagegen nicht auf den Kurven des *Bernoulli*-Falles. Sie gehören zu einem Polymerisat, das mit Butyllithium als Starter bei – 70 °C in Toluol polymerisiert wurde. Sein Spektrum zeigt die Abb. 2. Die Auswertung der Methylen-Gruppe ergibt

$$p_i = 0{,}79\,,$$

während man aus der Methylresonanz in guter Übereinstimmung

$$p_i = 0{,}81$$

erhält. Die weiteren Wahrscheinlichkeiten ergeben sich als

$$\begin{aligned} p_{ii} &= 0{,}87 \quad p_{si} = 0{,}45 \\ p_{ss} &= 0{,}55 \quad p_{is} = 0{,}13\,. \end{aligned}$$

Ein isotaktischer Polymerisationsschritt folgt also mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine gleiche Bindung, da $p_{ii} > p_{si}$. Aber auch einem syndiotaktischen Schritt geht in den meisten Fällen eine syndiotaktische Verknüpfung voraus, weil $p_{ss} > p_{is}$.

Mit der Tendenz, längere isotaktische Sequenzen zu bilden, ist hier auch die Tendenz für längere syndiotaktische Sequenzen gekoppelt, so daß ein isotaktisch-syndiotaktisches Blockpolymeres vorliegt.

Teil II

3. Das Modell einer beliebig langen Kette

Die Sequenzlängen, d. h. die Anzahl m der aufeinander folgenden Monomereinheiten mit gleicher Konfiguration, werden durch die Wahrscheinlichkeiten der einzelnen Polymerisationsschritte bestimmt. Ist z. B. p_i, die Wahrscheinlichkeit eines isotaktischen Polymerisationsschrittes, groß gegen die relative Häufigkeit der syndiotaktischen Schritte, dann sind im Mittel auch die isotaktischen Sequenzen wesentlich länger als die syndiotaktischen Blöcke. Dabei muß jedes Polymerisat, das nicht völlig isotaktisch ($p_i = 1$) oder völlig syndiotaktisch ($p_s = 1$) ist, sowohl isotaktische wie syndiotaktische Sequenzen enthalten.

Mit den experimentell bestimmten Wahrscheinlichkeiten p_{ii}, p_{is}, p_{si} und p_{ss}, welche die Häufigkeiten der verschiedenen Schritte während der Polymerisation angeben, kann man in einem Modell den Polymerisationsvorgang mathematisch nachbilden. In diesem Modell kann dann die Häufigkeit der Sequenzen verschiedener Länge abgezählt werden. Wenn die Ketten in dem untersuchten Polymerisat genügend lang sind, so daß man die Störungen an den Kettenenden vernachlässigen kann, dann muß die Sequenzlängenverteilung des Modells, das nur eine unendlich lange Kette enthält, mit der Sequenzlängenverteilung des Polymerisates übereinstimmen.

Ein taktischer Polymerisationsschritt ist erst durch die Konfiguration der beiden Einheiten definiert, die er miteinander verknüpft. Die kürzeste Sequenz unseres Modells enthält daher zwei Grundbausteine.

4. Die Wahrscheinlichkeit für die Bildung von Sequenzen (Sequenzwahrscheinlichkeiten)

Eine willkürlich herausgegriffene isotaktische Sequenz $B_i(m)$ der Länge m, siehe Abb. 5, die entweder auf eine isotaktische oder eine syndiotaktische Sequenz folgen kann, $B_{ii}(m)$ bzw. $B_{si}(m)$, enthält gerade m Einheiten, wenn die anfängliche isotaktische Bindung i sich noch $(m-2)$mal wiederholt und dann ein syndiotaktischer Schritt s folgt (7).

Entsprechend ist eine syndiotaktische Sequenz $B_s(m)$ bzw. $B_{is}(m)$ oder $B_{ss}(m)$ definiert durch einen syndiotaktischen Schritt s, gefolgt von $(m-2)$ gleichen Schritten und einem isotaktischen Schritt i.

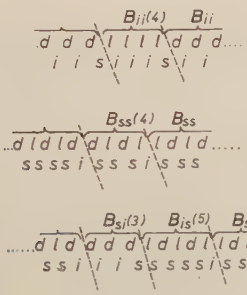


Abb. 5. Sequenzen in taktischen Polymeren

Die Wahrscheinlichkeit $n'_{ii}(m)$ derjenigen isotaktischen Sequenzen $B_{ii}(m)$, die auf irgendeine isotaktische Sequenz folgen, ist gleich dem Produkt der Wahrscheinlichkeiten der Einzelschritte. Es ist also

$$n'_{ii}(m) = p_{si}\, p_{ii}^{m-2} \cdot p_{is}. \qquad [9']$$

Für die anderen möglichen Sequenzen $B_{si}(m)$, $B_{is}(m)$ und $B_{ss}(m)$ ergeben sich nach der Definition und Abb. 5 folgende Wahrscheinlichkeiten:

$$\begin{aligned} n'_{is}(m) &= p_{ss}\, p_{ss}^{m-2} \cdot p_{si} \\ n'_{si}(m) &= p_{ii}\, p_{ii}^{m-2} \cdot p_{is} \\ n'_{ss}(m) &= p_{is}\, p_{ss}^{m-2} \cdot p_{si}. \end{aligned} \qquad [9'']$$

Für die Laufzahl m gilt hier und in allen folgenden Gleichungen, soweit nicht ausdrücklich anders vermerkt,

$$m \geq 2.$$

Die Sequenzwahrscheinlichkeiten der Gleichung [9] sind in ähnlicher Weise wie die Schrittwahrscheinlichkeiten definiert. Es ist

$$n'_{ii}(m) = \frac{\text{Anzahl der Sequenzen } B_{ii}(m) \text{ mit der Länge } m}{\text{Gesamtzahl der Sequenzen } B_{ii} \text{ und } B_{is}}$$

Die anderen Größen $n'_{is}(m)$, $n'_{si}(m)$ und $n'_{ss}(m)$ haben die entsprechende Bedeutung für die übrigen Sequenztypen. Daher ist:

$$\sum_{m=2}^{\infty} n'_{ii}(m) + \sum_{m=2}^{\infty} n'_{is}(m) = p_{si} + p_{ss} = 1$$

$$\sum_{m=2}^{\infty} n'_{si}(m) + \sum_{m=2}^{\infty} n'_{ss}(m) = p_{ii} + p_{is} = 1.$$

Mit $n_{ii}(m)$, $n_{is}(m)$, $n_{si}(m)$ und $n_{ss}(m)$ werden die relativen Häufigkeiten der vier Sequenztypen mit jeweils m Einheiten bezeichnet. Das heißt, es bedeutet:

$$n_{ii}(m) = \frac{\text{Anzahl der Sequenzen } B_{ii}(m) \text{ mit der Länge } m}{\text{Gesamtzahl aller Sequenzen überhaupt}}.$$

Für diese relativen Häufigkeiten ist daher

$$\sum_{m=2}^{\infty} [n_{ii}(m) + n_{is}(m) + n_{si}(m) + n_{ss}(m)] = 1.$$

Der Zusammenhang zwischen den Größen $n'_{ii}(m)$ und $n_{ii}(m)$ folgt unmittelbar aus den Definitionen zu

$$n_{ii}(m) = n'_{ii}(m) \cdot \sum_{m=2}^{\infty} [n_{ii}(m) + n_{is}(m)]. \qquad [10]$$

In unserem Modell, das Ketten mit einer großen Anzahl von Sequenzen beschreibt, muß die Gesamtzahl der Sequenzen B_{is} gleich der Gesamtzahl der Sequenzen B_{si} sein. Die Begründung ist dieselbe wie für die Gleichheit der Wechselschritte N_{si} und N_{is}. Das heißt, es ist sicher

$$n_{is}(m) \neq n_{si}(m).$$

Jedoch muß die Bedingung

$$\sum_{m=2}^{\infty} n_{is}(m) = \sum_{m=2}^{\infty} n_{si}(m) \qquad [11]$$

erfüllt sein. Damit wird Gleichung [10] zu

$$\begin{aligned} n_{ii}(m) &= n'_{ii}(m) \cdot \sum_{m=2}^{\infty} [n_{ii}(m) + n_{si}(m)] = \\ &= n'_{ii}(m) \cdot \sum_{m=2}^{\infty} n_i(m)\,, \end{aligned} \qquad [12]$$

wobei

$$n_i(m) = n_{ii}(m) + n_{si}(m)$$

die Wahrscheinlichkeit angibt, im Polymerisat eine isotaktische Sequenz mit m Gliedern zu finden, die entweder vom einen oder vom anderen Typ sein kann. Die Wahrscheinlichkeit, eine entsprechende syndiotaktische Sequenz zu finden, ist

$$n_s(m) = n_{is}(m) + n_{ss}(m).$$

Auf dem gleichen Weg, der zu Gleichung [12'] führt, findet man die weiteren Beziehungen:

$$n_{is}(m) = n'_{is}(m) \sum_{m=2}^{\infty} n_i(m)$$

$$n_{si}(m) = n'_{si}(m) \sum_{m=2}^{\infty} n_s(m) \qquad [12'']$$

$$n_{ss}(m) = n'_{ss}(m) \sum_{m=2}^{\infty} n_s(m).$$

Berücksichtigt man die Beziehung [11], dann sieht man sofort aus den Definitionen, daß

$$\sum_{m=2}^{\infty} n_i(m) = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} n'_{si}(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} [n'_{is}(m) + n'_{si}(m)]} = \frac{p_{ii}}{p_{ii} + p_{ss}}$$

und [13]

$$\sum_{m=2}^{\infty} n_s(m) = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} n'_{is}(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} [n'_{is}(m) + n'_{si}(m)]} = \frac{p_{ss}}{p_{ii} + p_{ss}} .$$

Einsetzen der Gleichungen [9] und [13] in die Gleichung [12] gibt schließlich die relativen Häufigkeiten der Sequenzen mit m Einheiten.

$$n_i(m) = n_{ii}(m) + n_{si}(m) = \frac{p_{is}}{p_{ii} + p_{ss}} p_{ii}^{m-1}$$
$$n_s(m) = n_{is}(m) + n_{ss}(m) = \frac{p_{si}}{p_{ii} + p_{ss}} p_{ss}^{m-1} \qquad [14']$$

und

$$n_{ii}(m) = p_{si} n_i(m) \qquad n_{is}(m) = p_{ii} n_s(m)$$
$$n_{si}(m) = p_{ss} n_i(m) \qquad n_{ss}(m) = p_{is} n_s(m). \qquad [14'']$$

5. *Rückführung der Sequenzwahrscheinlichkeiten auf die Schrittwahrscheinlichkeiten für die Sequenzen*

Aus den Sequenzwahrscheinlichkeiten $n(m)$ der Gleichung [14] lassen sich rückwärts wiederum die Taxie und die Schrittwahrscheinlichkeiten berechnen.

Die Isotaxie I und damit die Wahrscheinlichkeit für den isotaktischen Polymerisationsschritt erhält man, indem man die isotaktischen Schritte in den einzelnen Sequenzen abzählt. Die isotaktischen Sequenzen mit der Häufigkeit $n_i(m)$ enthalten $(m-1)$, die syndiotaktischen Sequenzen dagegen nur eine isotaktische Verknüpfung (siehe Abb. 5).

Der Anteil der isotaktischen Bindungen in diesem Modell ist daher

$$\frac{N_{ii} + N_{si}}{N} = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} (m-1) n_i(m) + \sum_{m=2}^{\infty} n_s(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} m[n_i(m) + n_s(m)]} =$$

$$= \frac{p_{si}}{p_{is} + p_{si}} = p_i , \qquad [15']$$

für die Homo-Isotaxie I^* und die Heterotaxie H^* erhält man in Übereinstimmung mit Gleichung [6]

$$\frac{N_{ii}}{N} = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} [(m-2) n_{ii}(m) + (m-1) n_{si}(m)]}{\sum_{m=2}^{\infty} [n_i(m) + n_s(m)]} =$$

$$= \frac{p_{si}}{p_{is} + p_{si}} p_{ii} = p_i p_{ii} \qquad [15'']$$

$$\frac{N_{is}}{N} = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} [n_i(m) + n_{ss}(m)]}{\sum_{m=2}^{\infty} [n_i(m) + n_s(m)]} = \frac{p_{is} p_{si}}{p_{is} + p_{si}} = p_i p_{is}.$$

Wegen der Symmetrie der Gleichung [11] folgen die Werte für

$$\frac{N_{ss} + N_{is}}{N} = p_s \qquad \frac{N_{ss}}{N} = p_s p_{ss} \quad \text{und} \quad \frac{N_{si}}{N} = p_s p_{si}$$

durch Vertauschen der Indizes i und s in den Gleichungen [12].

6. *Die Sequenzlängenverteilung und die mittleren Sequenzlängen*

Die Anzahl derjenigen Monomereinheiten, die einheitliche Sequenzen mit gerade m Einheiten bilden, dividiert durch die Gesamtzahl aller Grundbausteine, gibt den gesuchten Gewichtsanteil der Sequenzen mit der Länge m am gesamten Polymeren, die Sequenzlängenverteilung. Man erhält sie aus der Gleichung [13]

$$W_i(m) = \frac{m \cdot n_i(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} m[n_i(m) + n_s(m)]} = m \cdot p_i \frac{p_{is}^2 p_{ii}^{m-1}}{1 - p_{is} p_{si}} \qquad [16']$$

$$W_s(m) = \frac{m \cdot n_s(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} m[n_i(m) + n_s(m)]} = m \cdot p_s \frac{p_{si}^2 p_{ss}^{m-1}}{1 - p_{is} p_{si}} .$$

Weiter ist nach Gleichung [14]:

$$W_{ii}(m) = p_{si} W_i(m) \qquad W_{is}(m) = p_{ii} W_s(m)$$
$$W_{si}(m) = p_{ss} W_i(m) \qquad W_{ss}(m) = p_{is} W_s(m). \qquad [16'']$$

Die mittlere Sequenzlänge, angegeben durch die Zahl der in ihnen enthaltenen

Kettenglieder, erhält man aus

$$l_i = \frac{\sum_{m=2}^{\infty} m \cdot n_i(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} n_i(m)} = \frac{1}{p_{is}}(1 + p_{is})$$
$$l_s \quad \frac{\sum_{m=2}^{\infty} m \cdot n_s(m)}{\sum_{m=2}^{\infty} n_s(m)} = \frac{1}{p_{si}}(1 + p_{si}). \qquad [17]$$

Nach Gleichung [14] sind die mittleren Sequenzlängen unabhängig von der vorhergegangenen Sequenz

$$\bar{l}_i = \bar{l}_{ii} = \bar{l}_{si}$$
$$\bar{l}_s = \bar{l}_{ss} = \bar{l}_{is} \ .$$

Ein Maß für die Breite der durch Gleichung [13] gegebenen Sequenzlängenverteilung ist die Streuung b.

$$b_i = (\bar{l_i^2} - \bar{l}_i^2)^{\frac{1}{2}} = \frac{p_{ii}}{p_{is}}(1 + p_{is})^{\frac{1}{2}}$$
$$b_s = (\bar{l_s^2} - \bar{l}_s^2)^{\frac{1}{2}} = \frac{p_{ss}}{p_{si}}(1 + p_{si})^{\frac{1}{2}} \ . \qquad [18]$$

Den Gewichtsanteil von Sequenzen, die länger als m Einheiten sind, geben die Gleichungen [17] und [18]

$$f_i(m) = \sum_{k=m+1}^{\infty} W_i(k) = p_i \cdot p_{ii}{}^m \cdot \frac{1 + m p_{is}}{1 - p_{si} p_{is}} \qquad m \geq 1$$
$$f_s(m) = \sum_{k=m+1}^{\infty} W_s(k) = p_s \cdot p_{ss}{}^m \cdot \frac{1 + m p_{si}}{1 - p_{si} p_{is}} \qquad m \geq 1 \ . \qquad [19']$$

Nach Gleichung [14] ist

$$f_{ii}(m) = p_{si} f_i(m) \qquad f_{is}(m) = p_{ii} f_s(m)$$
$$f_{si}(m) = p_{ss} f_i(m) \qquad f_{ss}(m) = p_{is} f_s(m) \ . \qquad [19'']$$

Die Zahlen $f_i(l)$ beziehungsweise $f_s(l)$, das sind die gesamten Anteile in isotaktischen oder syndiotaktischen Sequenzen, bestimmen die obere Grenze für den möglichen Kristallinitätsgrad.

Wenn die Wahrscheinlichkeiten der Polymerisationsschritte unabhängig vom vorausgegangenen Schritt sind, wie es bei radikalischer Polymerisation des Polymethylmethacrylates in Masse der Fall ist, dann werden die abgeleiteten Gleichungen einfacher. Da in diesem Falle

$$p_{ii} = p_{si} = p_i \qquad p_{ss} = p_{is} = p_s$$

ist, erhält man die einfachen Gleichungen durch Weglassen des ersten Index. Aus der Gleichung [16] wird z. B.

$$W_i(m) = m \frac{p_s{}^2 p_i{}^m}{1 - p_i p_s} \ .$$

7. *Die Taxie*

Mit den Schrittwahrscheinlichkeiten ist auch die Taxie quantitativ bestimmt. Nach der Definition von *Natta* und *Danusso* (12) ist die einfache Regel, welche ein isotaktisches Polymer definiert, die Wiederholung der Konfiguration der Monomereinheiten entlang einer einzelnen Kette. Syndiotaktisch ist ein Polymeres, bei dem sich entlang einer Kette die Konfiguration der Monomereinheiten abwechselnd invertiert.

An diese Definition anschließend bezeichnen wir eine Monomereinheit, die in einer Kette zwischen zwei Nachbareinheiten mit gleicher Konfiguration liegt, als isotaktische Einheit. Eine syndiotaktische Einheit liegt zwischen zwei Grundbausteinen mit invertierter Konfiguration.

Heterotaktische Einheiten sind solche, die in der Kette mit Nachbareinheiten verbunden sind, von denen die eine die gleiche, die andere dagegen die entgegengesetzte Konfiguration wie die zentrale Einheit besitzt.

Ein isotaktischer Polymerisationsschritt bezeichnet eine Bindung zwischen zwei Monomereinheiten mit gleicher Konfiguration, während ein syndiotaktischer Polymerisationsschritt zwei Nachbarn mit invertierter Konfiguration bindet.

Als Grad der Isotaxie oder einfach als Isotaxie I solcher Polymere, die sowohl isotaktische wie syndiotaktische Verknüpfungen enthalten, bezeichnen wir den relativen Anteil p_i an isotaktischen Bindungen oder, anders formuliert, den Anteil derjenigen Monomereinheiten, die mindestens mit einer Nachbareinheit isotaktisch verknüpft sind. Die Syndiotaxie S bezeichnet den Anteil p_s an syndiotaktischen Polymerisationsschritten bzw. den Anteil an Monomereinheiten mit mindestens einer syndiotaktischen Verknüpfung. Es ist daher die

$$\text{Isotaxie } I + \text{Syndiotaxie } S = 1 \ .$$

Mit der Angabe der Isotaxie I, die gleichzeitig die Syndiotaxie S bestimmt, ist indessen noch keine Aussage gemacht über die Kettenstruktur, das ist die Verteilung der Bindungen über die Kette. Es können sich zwei Polymere mit gleicher Isotaxie wesentlich in ihrer Struktur unterscheiden. Z. B. können in dem einen alle isotaktischen Bindungen, in dem anderen alle syndiotaktischen Verknüpfungen zu heterotaktischen Einheiten gehören, so daß bei gleicher Isotaxie das eine Polymerisat keine isotaktischen Einheiten, das andere keine syndiotaktischen Einheiten enthält.

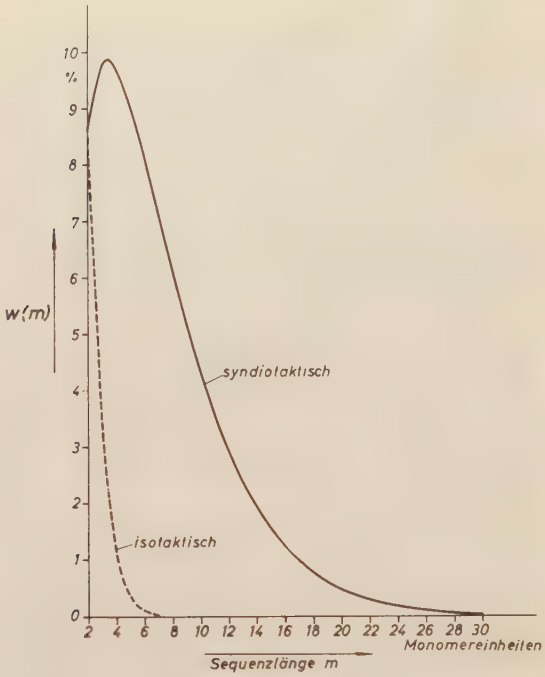


Abb. 6. Technisches Polymethylmethacrylat
$p_s = p_{is} = p_{ss} = 0{,}75$
Gewichtsanteil der Sequenzen mit m Grundeinheiten als Funktion der Länge m

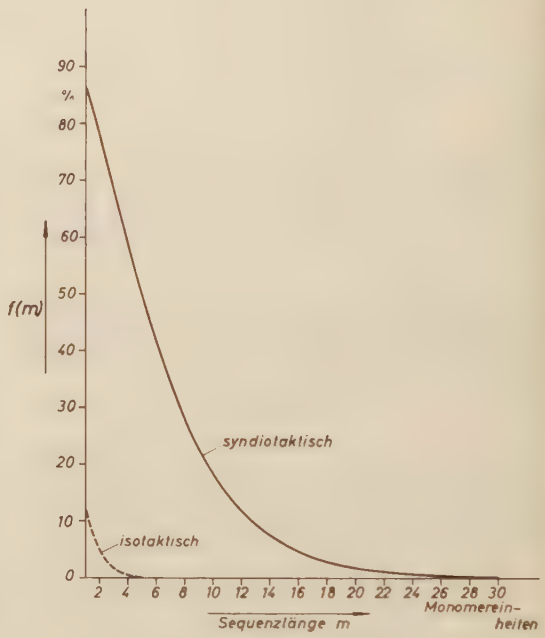


Abb. 7. Technisches Polymethylmethacrylat
$p_{s_j} = p_{is} = p_{ss} = 0{,}75$
Gewichtsanteil aller Sequenzen mit mehr als m Einheiten

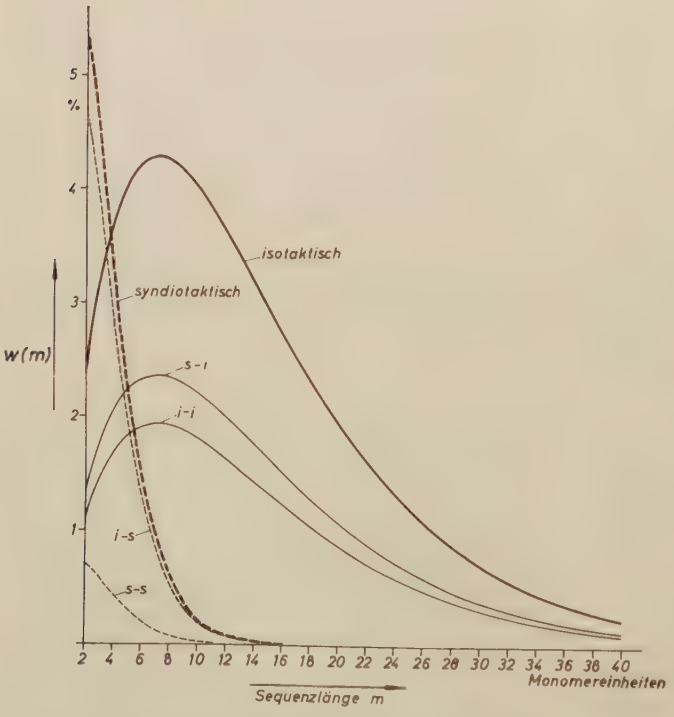


Abb. 8. Polymethylmethacrylat (Laborsubstanz) $p_i = 0{,}81$; $p_{ii} = 0{,}87$; $p_{si} = 0{,}45$ Gewichtsanteil der Sequenzen mit m Grundeinheiten als Funktion der Länge m

Es muß daher zur Isotaxie bzw. Syndiotaxie eine zweite unabhängige Größe treten, welche die Verteilung der Bindungen über die Kette, die Kettenstruktur, festlegt.

Es ist naheliegend, als zweite unabhängige Größe die Heterotaxie H^* anzugeben. H^* bezeichnet die relative Häufigkeit der heterotaktischen Einheiten. Durch die Werte der

Isotaxie

$$I = p_i,$$

der Syndiotaxie

$$S = p_s$$

und der Heterotaxie

$$H^* = p_i p_{is} + p_s p_{si} = 2 p_i p_{is} = 2 p_s p_{si}$$

sind die Schrittwahrscheinlichkeiten vollständig bestimmt.

Die Anteile I^* und S^* der isotaktischen bzw. syndiotaktischen Einheiten können ebenfalls aus

$$I^* = I - \frac{1}{2} H^*;$$

$$S^* = S - \frac{1}{2} H^*$$

leicht ermittelt werden.

Die mittleren Sequenzlängen $\bar{l}_i$ und $\bar{l}_s$ der isotaktischen bzw. syndiotaktischen Sequenzen ergeben sich zu

$$l_i = \frac{2I + H^*}{H^*} \; ; \qquad l_s = \frac{2S + H^*}{H^*} \; .$$

Teil III

8. Die Anwendung auf das Polymethylmethacrylat

Die Abbildungen 6, 7, 8 und 9 zeigen die Verteilungen $w(m)$ und $f(m)$ der beiden Präparate, deren gemessene Schrittwahrscheinlichkeiten in die Abb. 4 eingezeichnet sind.

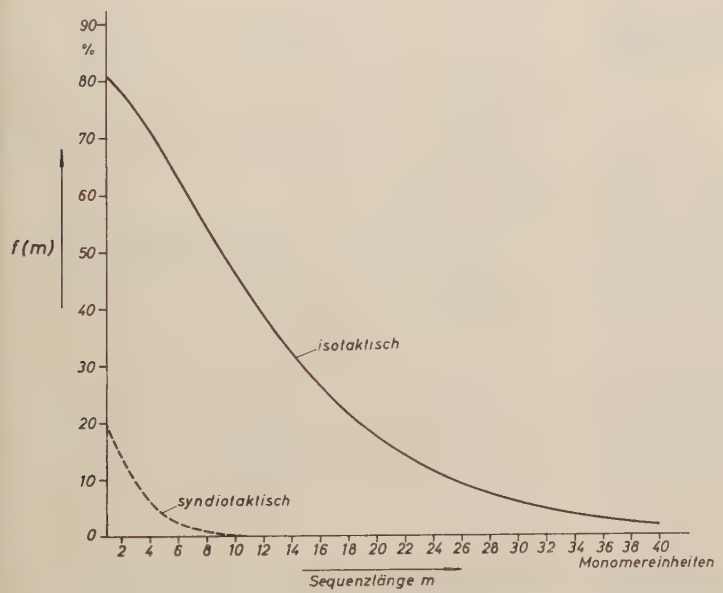


Abb. 9. Polymethylmethacrylat (Laborsubstanz) $p_i = 0{,}81$; $p_{ii} = 0{,}87$; $p_{si} = 0{,}45$ Gewichtsanteil aller Sequenzen mit mehr als m Einheiten

Das technische Präparat mit den Schrittwahrscheinlichkeiten $p_i = 0{,}25$, $p_s = 0{,}75$ wird charakterisiert durch die Werte

$$I = 25\% \quad S = 75\% \quad H^* = 38\%.$$

Man sieht ohne Rechnung an dem relativ großen Anteil H^* an heterotaktischen Einheiten, daß trotz der hohen Syndiotaxie S, die Sequenzen kurz sein müssen. Die Sequenzlängenverteilung der Abb. 6 und 7 zeigt, daß der größte Anteil der Monomereinheiten sich in syndiotaktischen Sequenzen mit 4 Grundbausteinen befindet. Diese Sequenzen enthalten etwa 10% aller Monomereinheiten, während nur 1% aller Einheiten in gleichlange isotaktische Sequenzen eingebaut ist. Die obere Grenze für die vorhandenen isotaktischen Sequenzen liegt bei einer Länge von 6 Einheiten, während erst solche syndiotaktischen Sequenzen, die mehr als 27 Glieder enthalten, praktisch nicht mehr vorkommen. Für die mittleren Sequenzlängen berechnet man

$$\bar{l}_s = 5 \text{ Glieder},$$

wobei die Streuung $b_s = 3$ bis 4 Glieder beträgt.

Für die isotaktischen Sequenzen ist

$$\bar{l}_i = 2 \text{ bis } 3 \text{ Glieder mit } b_i = 0{,}4.$$

Die Größe $\bar{l} + b$ ist, wie man sieht, ein brauchbares Maß für die Breite der Verteilung.

Der Abb. 7 entnimmt man, daß die syndiotaktischen Sequenzen 87 Gewichts-Prozent des gesamten Polymerisates ausmachen. Dabei liegen noch 50% aller Monomereinheiten in Sequenzen, die länger als 6 Einheiten sind. In isotaktische Sequenzen, die mit Längen zwischen 2 und 5 Bausteinen vorkommen, sind dagegen nur 13% aller Monomereinheiten eingebaut.

Das anionisch polymerisierte isotaktische Präparat hat eine

$$\text{Isotaxie } I = 81\% \quad (S = 19\%)$$

und eine

$$\text{Heteroxie } H^* = 17{,}3\%.$$

Wie der Vergleich der beiden H^*-Werte zeigt, hat das isotaktische Polymerisat gegenüber dem technischen Produkt etwa die doppelte Sequenzlänge. Der absolute Betrag der Taxie von 81% ist fast derselbe wie der des handelsüblichen Produktes mit 75% syndiotaktischen Bindungen. Wesentlich verschieden ist dagegen die Verteilung der Bindungen auf die Kette. Während beim technischen Präparat die Polymerisationsschritte unabhängig vom vorhergehenden Schritt erfolgen, setzt sich beim ionisch polymerisierten isotaktischen Polymerisat das isotaktische und syndiotaktische Wachstum selbst fort. Die Verteilung der beiden taktischen Sequenzen ist daher wesentlich breiter. Die mittleren Längen sind (Abb. 8):

$\bar{l}_i = 9$ Einheiten mit der Streuung $b_i = 7$ Glieder
$\bar{l}_s = 3$ Einheiten mit der Streuung $b_s = 2$ Glieder.

Fast alle syndiotaktischen Sequenzen, nämlich die mit *i-s* bezeichneten, folgen auf isotaktische, während andererseits die Mehrzahl der isotaktischen Sequenzen (*s-i*) auf syndiotaktische Blöcke folgt. Es liegt also

hier ein isotaktisch-syndiotaktisches Blockpolymeres vor, in dem praktisch alle syndiotaktischen Blöcke zwischen isotaktischen Blöcken eingebaut sind. Die Breite der Verteilung zeigt besonders deutlich die Abb. 9. Die Hälfte aller Monomereinheiten ist in isotaktische Sequenzen eingebaut, die länger als 10 Einheiten sind. 20% liegen in Blöcken, deren Länge 20 Glieder überschreiten. Erst die ungestörte Folge von 40 isotaktischen Polymerisationsschritten ist so unwahrscheinlich, daß sich nur noch 2% aller Monomereinheiten in längeren Blöcken befindet. Syndiotaktische Sequenzen mit mehr als 10 Gliedern kommen dagegen nicht vor.

Herrn Professor Dr. *K.-H. Hellwege* danke ich für Diskussionen und die ständige Förderung dieser Arbeit.

Zusammenfassung

Von den drei Resonanzlinien der α-Methyl-Gruppe in den Kernresonanzspektren des gelösten Polymethylmethacrylates, die bei $\tau = 8{,}80$, $\tau = 8{,}96$ und $\tau = 9{,}09$ erscheinen, ist die Linie bei $\tau = 8{,}80$ der Anzahl derjenigen isotaktischen Polymerisationsschritte proportional, die auf einen isotaktischen Schritt folgen. Das Signal bei $\tau = 9{,}09$ entspricht der Anzahl der syndiotaktischen Verknüpfungen, die auf einen syndiotaktischen Schritt folgen. Der Linie bei $\tau = 8{,}96$ wird die Häufigkeit der isotaktischen und syndiotaktischen Schritte zugeordnet, die auf einen entgegengesetzten Schritt folgen. Damit können aus dem Spektrum die Wahrscheinlichkeiten für die beiden Polymerisationsschritte in Abhängigkeit vom vorhergegangenen Schritt bestimmt werden. Bei vorwiegend isotaktischen Polymerisaten gibt auch das Signal der Methylen-Gruppe die Wahrscheinlichkeiten für die beiden Verknüpfungen selbst.

Bei radikalischer Polymerisation in Masse erfolgen die Schritte unabhängig von der vorhergegangenen Bindung, während bei anionischer Polymerisation die letzte Verknüpfung den folgenden Polymerisationsschritt in der Weise beeinflußt, daß sich sowohl das isotaktische wie das syndiotaktische Wachstum selbst fortsetzen, und längere Sequenzen entstehen.

Mit Hilfe einer allgemein für taktische Polymere gültigen mathematischen Beschreibung wird die wahrscheinliche Kettenstruktur in Abhängigkeit von den Schrittwahrscheinlichkeiten berechnet.

Das Verfahren wird auf ein radikalisches und ein anionisches Präparat angewandt. Es werden die Wahrscheinlichkeiten für die Schritte, die Taxie, die Sequenzlängenverteilungen für die isotaktischen und syndiotaktischen Sequenzen und die mittleren Sequenzlängen bestimmt.

Schrifttum

1) *Natta, G.*, J. Polymer Sci. **16**, 143 (1955).
2) *Bovey, F. A.* u. *G. V. D. Tiers*, J. Polymer Sci. **44**, 173 (1960).
3) *Tiers, G. V. D.*, J. Phys. Chem. **62**, 1151 (1958).
4) *Pople, J. A., G. Schneider*, and *H. J. Bernstein*, High Resolution Magnetic Resonance, McGraw-Hill (1959).
5) *Bernstein, S.*, Math. Annalen **97**, 28 (1927).
6) *Coleman, B. D.*, J. Polymer Sci. **31**, 155 (1958).
7) *Fordham, J. W. L.*, J. Polymer Sci. **39**, 321 (1959).
8) *Miller, R. L.* and *L. E. Nielsen*, J. Polymer Sci. **46**, 303 (1960).
9) *Johnsen, U.* u. *K. Tessmar*, Kolloid-Z. **168**, 160 (1960).
10) *Nishioka, A., H. Watanabe, I. Yamaguchi*, and *H. Shimizu*, J. Polymer Sci. **45**, 232 (1960).
11) *Nishioka, A., H. Watanabe, K. Abe*, and *Y. Sono*, J. Polymer Sci. **48**, 241 (1960).
12) *Natta, G.* and *F. Danusso*, J. Polymer Sci. **34**, 3 (1959).

From the Chemical Laboratories, University of Allahabad (India)

Verification of Bhattacharya's Equation during the Gelation of Some Succinate Sols

By Y. D. Upadhya and S. P. Mushran

With 6 figures and 1 table

(Received November 1, 1960)

For slow coagulation, several investigators have determined the relation between the rate of coagulation and the concentration of electrolyte.

Reerink, has deduced an equation connecting the stability ratio W for a sol and the concentration c of an added electrolyte, and according to him:

$$\log W = K_2 - K_1 \log c \,.$$

Bhattacharya and associates (2) have developed an empirical equation, connecting the concentration of the electrolyte c with the time of coagulation t. The equation is expressed as:

$$\frac{1}{c - a} = \frac{n}{m} \cdot t + \frac{1}{m} \,,$$

where a, m and n are constants and a has the dimensions of the concentration. In a recent communication *Ghosh* and *Gangopadhya* (3) have shown, how *Bhattacharya*'s empirical equation can be derived from *Reerink*'s equation, which has got a theoretical basis.

In this paper our results on the influence of the concentration of electrolytes on the gelling time of the gel forming zirconium and titanium succinate sols are reported.

Zirconium Succinate Sols

Three samples of zirconium succinate sol (A), (B) and (C) were prepared by adding to a fixed quantity of the metal nitrate, different amounts of sodium succinate, below the precipitation value, keeping total volume the same. The composition of the sols was as follows:

Amount of 0.357 M zirconium nitrate = 150.00 mls.
Amount of 0.250 M sodium succinate
in sol (A) = 90.00 mls.
in sol (B) = 95.00 mls.
in sol (C) = 100.00 mls.

The sols were purified by dialysis for a period of 96 hrs. The zirconium content of these samples were estimated, and for the purpose of investigation the metal content in the sols was maintained constant by necessary dilution of the sols with distilled water. The

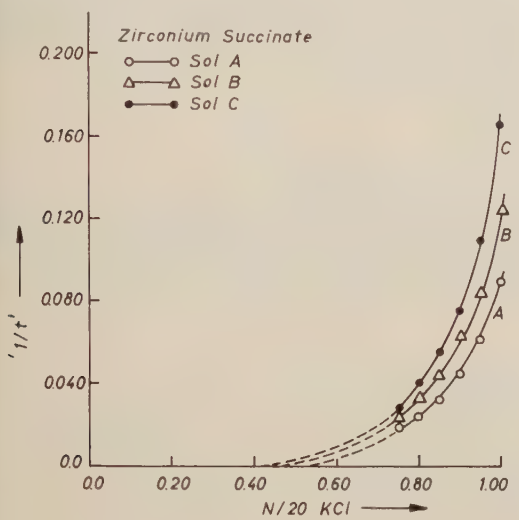


Fig. 1. Vide text

of the metal chloride, different amounts of sodium succinate below the precipitation value, keeping total volume the same. The composition of the sols was as follows:

Amount of titanium chloride (containing 11.834 gms of Ti/lit) = 160.00 mls.
Amount of 0.25 M sodium succinate
in sol (A) = 60.00 mls.
in sol (B) = 70.00 mls.
in sol (C) = 80.00 mls.

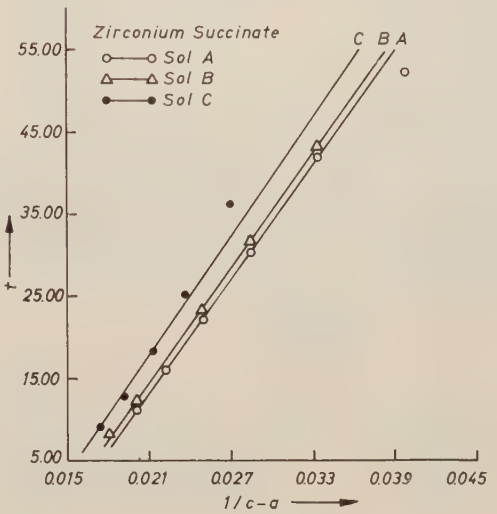


Fig. 2. Vide text

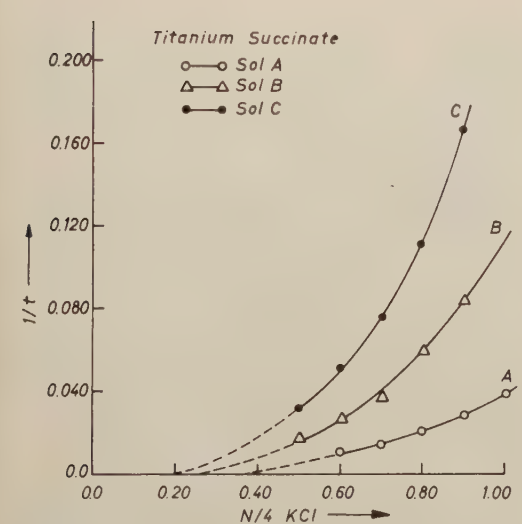


Fig. 3. Vide text

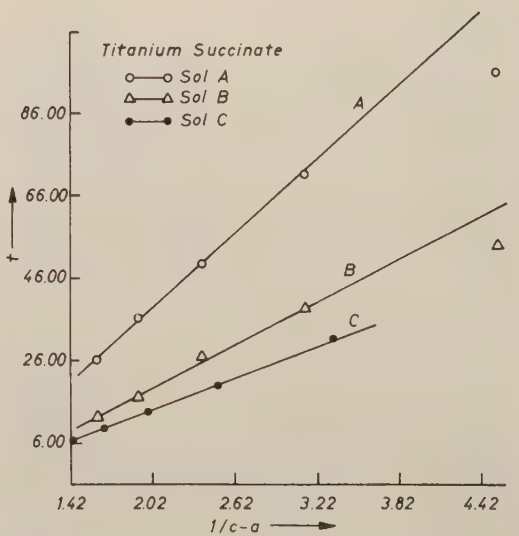


Fig. 4. Vide text

fixed amount of the sol (3.00 mls.) with different amount of the gelating electrolyte KCl of suitable concentration sets to firm and transparent gels, the total volume being constant (5.00 mls). The gelling time was recorded at 35 ± 0.1 °C according to *Upadhya* and *Mushran* (4).

Titanium Succinate Sols

Three samples of titanium succinate sols (A), (B) and (C) were prepared by adding to a fixed quantity

The sols were dialysed for purification for a period of 18 hours. The titanium content of the samples was estimated, and for the purpose of investigation the metal content in the sols was maintained the same by adequate dilution of the sols wherever necessary. The fixed amount of the sol (200 mls) with different amount of the gelating electrolytes KCl and K_2SO_4 of suitable concentration sets to firm and transparent gels, the total volume being constant (300 mls). The gelling time was recorded at 25 ± 0.1 °C.

The inverse of the gelling time t and the concentration of the electrolyte in mls. are plotted. The concentration of the electrolyte necessary for gelation in infinite time i. e. when $1/t = 0$ is then obtained by extrapolation. This gave the value of a in the *Bhattacharya*'s equation. The value of c being known, the value of $c—a$ is obtained, from which the value of $1/c — a$ is found out, which is then plotted against t. Our results with the three different samples of each zirconium and titanium succinate sols are presented in Figures (1–6).

Discussion

A perusal of figs. 2, 4, 6 shows that the plot of $1/c - a$ and t is a straight line establishing the validity of the *Bhattacharya*'s equation. Further since a is the concentration of the electrolyte which can gelate the sols in infinite time, it may be taken as

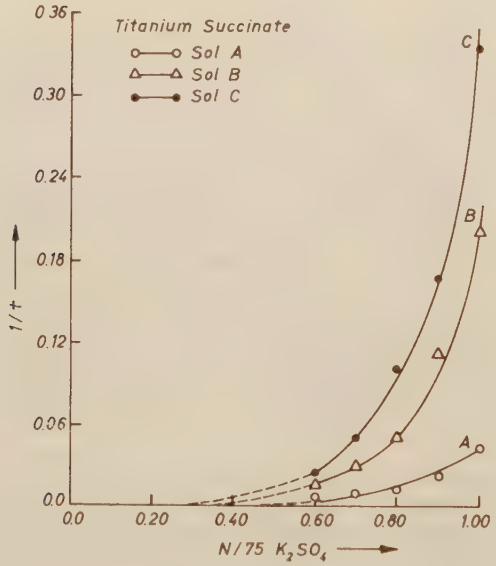


Fig. 5. Vide text

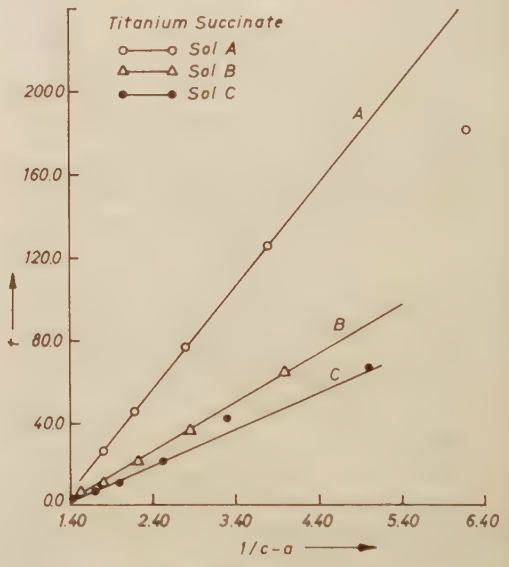


Fig. 6. Vide text

a value which expresses the stability of the sol. The value of a is found to be smaller for sols (C) containing bigger particles, as compared to (B) and (A) where the particle size is in the relative descending order due to the presence of smaller quantities of the precipitating agent i. e. the succinate solution (fig. 1, 3, 5). It is, therefore, evident that the sol A containing smaller sized particles, is more stable than one having bigger sized units and that the extent of the stability is measured by the value of the constant a in the *Bhattacharya*'s equation.

The intercept of the straight lines, obtained by plotting $1/c - a$ and t on the $1/c - a$ axis gives the value of $1/m$ when $t = 0$, from which the value of m is obtained. The value of the slope, of the lines gives the value of n/m from which the value of n may be calculated, the value of m being known. We have thus obtained the value of m and n for sol A of titanium succinate and the results are tabulated in table 1.

Table 1

Showing the values of m and n for titanium succinate

Gelating electrolyte	Intercept 1/m	m	Slope n/m	n
N/4 KCl	0.73	1.370	30.00	41.10
N/75 K_2SO_4	1.25	0.800	49.23	39.38

It is interesting to note from the above table that the value of m and n decrease with increasing valency of the gelating ion.

The constants m und n in the *Bhattacharya*'s equation therefore describe the specific nature of the gelating ions.

Summary

The gelation of zirconium and titanium succinate sols of different grain sizes by univalent and bivalent electrolytes has been investigated. From the results the concentration of the electrolyte required to gelate the sol at infinite time have been obtained. It has been shown that the equation of *Bhattacharya* viz.

$$\frac{1}{c-a} = \frac{n}{m}t + \frac{1}{m},$$

where c is the concentration of the electrolyte, a is the concentration of the electrolyte necessary to gelate the sol in infinite time and n and m are constants, is applicable. The value of a is found to be larger for the sol containing finer particles than for one containing

coarser ones. It therefore expresses the stability of a sol. It has been further shown that with the increasing valency of the gelating ion, there is a decrease of the value of the constants m and n.

Zusammenfassung

Die Gelatinierung von Zirkon- und Titansuccinatsolen verschiedener Korngrößen durch ein- und zweiwertige Elektrolyte wurde untersucht. Als Ergebnis wurde die Elektrolytkonzentration zur Gelatinierung der Sole in sehr langer Zeit erhalten. Es läßt sich zeigen, daß die Gleichung von *Bhattacharya* anwendbar ist. Der Wert von a wird für Sole mit kleineren Partikeln höher gefunden als für Sole mit größeren Partikeln. Er ist deshalb ein Maß für die Stabilität der Sole. Weiter ergibt sich, daß mit steigender Valenz der gelatinierenden Ionen die Werte der Konstanten m und n abnehmen.

References

1) *Reerink, H.*, Thesis Utrecht, 1951.
2) *Bhattacharya, A. K.* and associates, J. Colloid Sci. **11**, 124 (1956).
3) *Ghosh, B. N.* and *Gangopadhya, A. K.*, J. Ind. Chem. Soc. **38**, 811 (1959).
4) *Upadhya, Y. D.* and *S. P. Mushran*, Kolloid-Z. **171**, 31 (1960).

Wissenschaftliche Kurzberichte

Kurz-Mitteilungen sichern rasch die ***Priorität****. Die Verantwortung für den Inhalt trägt der Autor. Erscheinungstermin ca. innerhalb 2–6 Wochen nach Einreichung. Umfang der* ***deutlich*** *(Formeln!) geschriebenen Manuskripte bis zu 2 Maschinenseiten. Abbildungen vermeiden. Sonst klischierfähige Zeichnungen mit Beschriftung in weichem Blei. Sonderdruckfreiexemplare wie bei Originalarbeiten. Manuskripte an: Prof.* ***F. H. Müller****, Marburg/L., Georg-Voigt-Str. 5.*

Herausgeber und Verlag

Aus dem Institut für theoretische Physik der Technischen Hochschule Hannover und der Textilforschungsanstalt Krefeld

Über Untersuchungen der durch Gammastrahlung induzierten Veränderungen von Polyamid- und Polyvinylchloridfasern

Von J. Juilfs und H. Busch

(Eingegangen am 4. Juli 1961)

Einleitung

Über das Verhalten fester hochpolymerer Stoffe gegenüber energiereicher Strahlung liegen bisher kaum Veröffentlichungen vor, welche die strahleninduzierten Änderungen systematisch in Abhängigkeit von den einzelnen Versuchsparametern über ausgedehntere Bereiche behandeln. Die in der Literatur dargestellten Untersuchungen beschränken sich im allgemeinen auf einige, meist praktische und angewandte Fragestellungen betreffende Spezialfälle der Bestrahlung oder auf sehr spezielle Untersuchungsverfahren für die bestrahlten Substanzen. Die Zielsetzung war dabei meist der Vergleich eines irgendwie bestrahlten Materials mit dem entsprechenden unbestrahlten, wobei im allgemeinen nur die erzeugte Veränderung einer einzigen Eigenschaft untersucht wurde. Es ist daher nicht überraschend, daß die zahlreichen Einzelergebnisse nicht immer untereinander vergleichbar oder miteinander verträglich zu sein scheinen. Es sollte daher versucht werden, für bestimmte Dosis- und Dosisleistungsbereiche die Änderung der Materialeigenschaften – hier von einigen Faserarten – zu verfolgen und gegebenenfalls allgemeinere Schlüsse hieraus zu ziehen.

Aufgabenstellung

Es wurden strahleninduzierte Veränderungen untersucht, die an Nylon 6-(Perlon-), Nylon 66-(Nylon-) und Polyvinylchlorid-(Rhovyl-)Fasern durch Bestrahlung mit nicht-monochromatischer Gamma-Strahlung von Uran-Zerfallsprodukten bei Dosisleistungen zwischen 0,1 Mrad/h bis 3,8 Mrad/h und bei Dosen bis zu 250 Mrad auftreten. Dabei wurden für die Bestrahlungen nur solche die Uran-Spaltprodukte enthaltenden Reaktor-Brennstoffelemente ausgewählt, deren mittleres Alter im Bestrahlungszeitraum weitgehend übereinstimmte. Damit konnte für alle Versuchsreihen vorausgesetzt werden, daß das Spektrum der einwirkenden Gamma-Strahlung in etwa unverändert blieb. Daneben waren Einwirkungen auf das Untersuchungsgut durch Neutronen, Alphastrahlen oder Betastrahlen praktisch nicht vorhanden.

Die untersuchten strahleninduzierten Veränderungen bezogen sich auf die Form der Kraft-Längenänderungs-Kurven beim Zugversuch, die Reißkraft, die Schmelzpunkte und die Röntgenweitwinkeldiagramme in Abhängigkeit von der Dosis und der Dosisleistung. Ferner wurde versucht, eine etwaige strahleninduzierte Veränderung des Durchschnittspolymerisationsgrades der Polyamid-Substanzen zu messen.

Ergebnisse

Die *Kraft-Längenänderungs-Kurven* der Polyamidfasern wurden nach der Bestrahlung nur verkürzt gefunden, ohne ihren Verlauf innerhalb der Meßgenauigkeit zu verändern. Mit zunehmender Strahlendosis trat der Bruch der Faser also bei praktisch gleicher Kraft-Längenänderungs-Kurve früher ein. – Bei den Polyvinylchloridfasern blieb nur das erste Drittel der Kraft-Längenänderungs-Kurven nach der Bestrahlung praktisch unverändert. Mit zunehmender Strahlendosis traten im anschließenden Bereich der Kraft-Längenänderungslinie für gleiche Zugkräfte höhere Dehnungen auf. Die Reißdehnung blieb bis zu einer Dosis von 20 Mrad praktisch unverändert.

Die in Abhängigkeit von der Dosis für die Polyamidfasern gemessene *Reißkraft* zeigt bei konstanter Dosisleistung eine etwa exponentielle Abnahme mit steigenden Dosiswerten. Bemerkenswert ist, daß sich für alle untersuchten Fasermuster vom Polyamidtyp bei Bezug

der Reißkraft auf den Wert des entsprechenden unbestrahlten Ausgangsmaterials eine innerhalb der Meßgenauigkeit gleiche Abhängigkeit dieses Reißkraftverhältnisses von der Strahlendosis ergibt, obwohl sich die Ausgangsmaterialien sowohl in den Absolutwerten der Zugfestigkeit als auch in den Einzelheiten des Verlaufs der Kraft-Längenänderungs-Kurven nicht unerheblich unterscheiden.

Von besonderem Interesse mag der Befund sein, daß die strahleninduzierte Abnahme der Reißkraft mit steigender Dosisleistung für gleiche Dosis geringer ist.

Die unter dem Heiztisch-Mikroskop ermittelten *Schmelzpunkte* der Polyamidfasern weisen ebenfalls einen etwa exponentiellen Abfall mit steigender Dosis auf. Auch verändern sich die Schmelzpunkte bei allen untersuchten Fasermustern in gleicher Weise, wenn man die gemessenen absoluten Schmelztemperaturen auf die absoluten Schmelztemperaturen der entsprechenden unbestrahlten Materialien bezieht. Die mit einer Dosis von 250 Mrad bestrahlten Polyamidfasern schmelzen nicht mehr, sondern werden offenbar durch die Temperaturerhöhung vernetzt. – Bei den Polyvinylchloridfasern läßt sich nur bei den mit einer Dosis bis zu 20 Mrad bestrahlten Proben eine – beträchtliche – Schmelzpunktserniedrigung messen. Stärker bestrahlte Proben verkohlen vor Erreichen des Schmelzpunktes.

Die *Röntgen-Weitwinkeldiagramme* der bestrahlten Polyamidfasern weisen gegen die der unbestrahlten Proben im Rahmen der Meßgenauigkeit keine Veränderungen in bezug auf Lage und Intensitätsverhältnisse der Reflexe auf. Bei den Polyvinylchloridfasern sind die Weitwinkelreflexe zu diffus, um eine ähnliche hinreichend genaue Aussage zu ermöglichen.

Zur Bestimmung des *Durchschnittspolymerisationsgrades* sollten die Fasern in üblicher Weise gelöst werden. Dabei zeigte sich, daß die bestrahlten Polyamidfasern zum großen Teil im *m*-Kresol oder Ameisensäure, den üblicherweise verwendeten Lösungsmitteln, nicht mehr in Lösung gehen und ausdauernden scharfen Löseversuchen widerstehen. – Die Polyvinylchloridfasern dagegen zeigten keine durch die Bestrahlung herabgesetzte Löslichkeit in Tetrahydrofuran.

Diskussion

Auf den ersten Blick erscheinen die gemessenen strahleninduzierten Veränderungen nicht unmittelbar miteinander vereinbar. Die mit zunehmender Strahlendosis abnehmende Reißkraft bei den Polyamidfasern und die zusätzliche erhöhte Dehnbarkeit bei den Polyvinylchloridfasern deutet allgemein auf die Schwächung des Zusammenhalts der faseraufbauenden Moleküle hin und macht eine Vernetzung unwahrscheinlich. Bei den Polyvinylchloridfasern kann ein Abbau nicht ausgeschlossen werden. Die mit zunehmender Dosis abnehmenden Schmelzpunkte lassen auf eine Erhöhung der Beweglichkeit der Molekülkettensegmente (Drehbarkeit) schließen. Das unveränderte Röntgen-Weitwinkeldiagramm, aber auch der weitgehend unveränderte Anfangsbereich der Kraft-Längenänderungs-Kurven lassen vermuten, daß sich der Ordnungszustand des bestrahlten Materials nur wenig von dem des unbestrahlten unterscheiden sollte. Eine strahleninduzierte Verschiebung der Moleküle bzw. Molekülsegmente im Gitterverband, wie sie bei einer Vernetzung wahrscheinlich wäre, kann hiernach nicht ausgesagt werden. Die Unlöslichkeit eines Teiles der bestrahlten Polyamidfasern macht eine strahleninduzierte Vernetzung wahrscheinlich. Bei den Polyvinylchloridfasern scheint der Kettenabbau den Vernetzungsvorgang zu überwiegen.

Die verschiedenen nachgewiesenen Veränderungen können also nicht ausschließlich durch die Bestrahlung allein hervorgerufen worden sein. Es drängt sich der Schluß auf, daß die nachgewiesenen Veränderungen, deren Entstehung durch die Bestrahlung im Fasergefüge vorbereitet wurde, durch die Nachweisverfahren selbst noch entscheidend beeinflußt werden. Zur Erzeugung der festgestellten strahleninduzierten Veränderungen ist also die Absorption der Strahlungsenergie zwar notwendig, aber im allgemeinen nicht hinreichend.

Es dürfte interessant sein, weitere Versuche anzustellen, um zu entscheiden, ob sich diese für die untersuchten Materialien festgestellten Ergebnisse für größere Bereiche von Dosis und Dosisleistung verallgemeinern und auch auf andere feste Hochpolymere übertragen lassen. Die mitgeteilten Ergebnisse[1]) lassen sich mit den entsprechenden Angaben in der Literatur durchaus vergleichen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir sehr für die Gewährung einer Sachbeihilfe zur Ermöglichung und Durchführung der Untersuchungen.

[1]) Vgl. auch Dissertation *H. Busch* (Technische Hochschule Hannover 1961).

Aus dem Institut für anorganische Chemie der Universität Poznań (Polen)

Die Zusammensetzung der Mizellen von essigsauren Hydrosolen hydrophiler und hydrophober Eisen-III-hydroxide

Von Alfons Krause (mitbearbeitet von W. Jagodzińska)

Mit 1 Tabelle

(Eingegangen am 22. Juli 1961)

Die gelbfarbigen Gele der röntgenkristallinen Eisen-III-hydroxide (Metahydroxide), wie γ-FeOOH oder α-FeOOH resp. Goethit, lassen sich ohne weiteres in 0,01 n-CH_3COOH peptisieren und bilden trübgelbe hydrophobe Hydrosole. Bei dem dunkelbraunen, wasserreichen Gel des röntgenamorphen Eisen-III-hydroxids (Orthohydroxid) hingegen erfordert die Peptisation längere Zeit, indem das Gel zunächst quillt und dann erst die Solbildung erfolgt (1), wonach aber völlig klare, hydrophilähnliche Sole entstehen, die in verdünntem Zustand goldgelb sind. Letztere können auf die hydrophoben Metahydroxid-Sole eine gewisse Schutzwirkung ausüben (2).

Sämtliche Acetatsole der verschiedenen Eisen-III-hydroxide wurden auf den gleichen Fe_2O_3-Gehalt (0,025 g Fe_2O_3 in 100 cm^3 Sol) und die gleiche CH_3COOH-Normalität (0,010 n) abgestimmt. Zwecks Herstellung der betr. Eisen-III-hydroxidgele wurde folgendermaßen verfahren: Das orangegelbe γ-FeOOH erhielten wir durch Luftoxydation eines $Fe(OH)_2$-Gels, das zunächst aus

$FeSO_4$- mit NaOH-Lösung bei $p_H = 5{,}4$ bei 20° gefällt, sodann abfiltriert und ausgewaschen wurde (3). Ein feinteiliges gelbes α-FeOOH wurde durch 5 min lange Hydrolyse einer $FeCl_3$-Lösung bei 120° und anschließende Ultrafiltration und gründliches Auswaschen gewonnen (4). Das gelbe Goethitgel $(\alpha\text{-}Fe_2O_3 \cdot H_2O)_n$ entsteht nach den Angaben von *Böhm* (5) aus dem röntgenamorphen Orthohydroxidgel bei 150° in 2 n-KOH. Letzteres wurde durch Zusammenbringen von $FeCl_3$- und überschüssiger NH_3-Lösung bei 20° schnell gefällt und gründlich ausgewaschen.

Die essigsauren Hydrosole der genannten Eisen-III-hydroxide lassen sich ohne Unterschied durch Kartoffelstärke (5 min langes Ausschütteln) vollständig koagulieren (2), wofür aber das hydrophilähnliche Sol

Tabelle 1

A = Acetatsol des röntgenamorphen Eisen-III-hydroxids, B = Acetatsol des γ-FeOOH. Je 30 cm³ Sol (= 0,0075 g Fe_2O_3; 0,010 n-CH_3COOH) gefällt mit Stärke

	A + 9 g Stärke	B + 3 g Stärke
CH_3COOH-Normalität nach Fällung der Acetatsole	0,0052	0,0087
CH_3COOH-Normalität nach Ausschütteln einer 0,010 n-Essigsäure allein mit 9 g resp. 3 g Stärke	0,0063	0,0088

[1]) Der Zusammenschluß mehrerer solcher Proben resp. ihrer Filtrate ermöglichte eine genaue Bestimmung der CH_3COOH-Normalität.

des Orthohydroxyds weit mehr Stärke benötigt als die gelben hydrophoben Hydrosole der Metahydroxyde. Bei dieser Koagulation wird von den Eisen-III-hydroxid-Kolloidteilchen eine bestimmte Menge CH_3COOH mitgeschleppt, die jedoch ungleich und bei dem hydrophilähnlichen Hydrosol etwa 10mal so groß ist wie bei den hydrophoben Metahydroxidsolen. Bei den letzteren beträgt in gut reproduzierbaren Versuchen das betr. Mol. Verh. $Fe_2O_3 : CH_3COOH = 1 : 0{,}06$ bis 0,08, während beim Orthohydroxid-Sol 1 : 0,6 gefunden wurde (vgl. die Tab. 1). Dieser Befund deutet darauf hin, daß dieses Hydrosol den Kolloidelektrolyten nahesteht und auch aus kleineren Mononen besteht als die gelben wasserärmeren Metahydroxide. Letztere sind im Vergleich mit dem Orthohydroxid sowohl chemisch als auch katalytisch weniger aktiv (6) und bilden ausgesprochen hydrophobe Hydrosole. – Bei den Koagulationsversuchen mit Stärke wurde die von der letzteren adsorbierte CH_3COOH-Menge stets in Abrechnung gebracht.

Schrifttum

1) Vgl. *Krause, A.*, Z. anorg. allgem. Chem. **169**, 273 (1928).
2) *Krause, A.* u. Mitarb., Roczniki chem. (Ann. Soc. chim. Polonorum) **32**, 1397 (1958).
3) *Krause A.*, Z. anorg. allgem. Chem. **174**, 145 (1928).
4) *Krause, A.* und *W. Buczkowski*, Z. anorg. allgem. Chem. **200**, 144 (1931); *Ayres, G. H.* u. *C. H. Sorum*, J. physic. Chem. **34**, 875 (1930).
5) *Böhm, J.*, Z. anorg. allgem. Chem. **149**, 212 (1925).
6) *Krause, A.* u. Mitarb., Ber. Dtsch. chem. Ges. **69**, 1982, 2709 (1936).

Buchbesprechungen

Advances in Polarography. Proceedings of the Second International Congress held at Cambridge 1959 (Fortschritte der Polarographie. Verhandlungen des 2. Internationalen Kongresses in Cambridge 1959). Herausgegeben von *I. S. Longmuir*-London. **Band 1:** XV, 407 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen. **Band 2:** IX, S. 408–803 mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen. **Band 3:** VII, S. 804–1204 mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1960, Pergamon Press). Preis kpl. geb. £ 15.—.

Der Wert von Kongreßabhandlungen, die üblicherweise später in anderer Form in den regulären Zeitschriften erscheinen, liegt vor allem in der zusammengefaßten Form und in den angeführten Diskussionsbeiträgen. Diese beiden Vorteile sind auch bei den rezensierten Bänden beibehalten. Jedoch sollten diejenigen Beiträge, die nicht am Kongreß vorgetragen wurden, nach der Ansicht des Rezensenten nicht in die Bände mit aufgenommen werden.

Der Kongreß in Cambridge, und zugleich auch die rezensierten Bände, spiegeln den gegenwärtigen Stand der Polarographie wieder. Auf dem Gebiet der polarographischen *Instrumentation und Methodik* waren Gegenstand des Interesses vor allem die oszillographischen Methoden (S. 1, 239, 482, 618, 640), die verschiedenen Abarten der Meß- und Bezugselektroden (S. 105, 198, 299, 500, 647, 982. 1132) und die Anwendung nichtwäßriger Lösungsmittel und Schmelzen (829, 911, 940, 948, 965, 974). Von den anderen Fragen dieser Art wurden die Ableitungsmethoden (158, 183, 239), die Elektrokapillarkurven (210), die Daueranalysatoren (218), die Chromatopolarographie (628), der Umschalter für periodische Polarisation (758) sowie Methoden für die Sauerstoffbestimmung in biologischem Material beschrieben.

Von den *theoretischen Fragen* wurde die größte Aufmerksamkeit den Diffusionsströmen (330, 375, 380, 408, 425, 437), den chemischen Reaktionen, die die Elektrodenreaktion begleiten (251, 281, 288, 359, 382, 454, 465, 655, 861), den katalytischen Strömen (367, 694, 875, 924, 933, 1048, 1067, 1101, 1142) sowie den eigentlichen Elektrodenvorgängen und dem Einfluß der Doppelschicht (26, 313, 777) gewidmet. Von den anderen diskutierten Fragen sind die polarographischen Maxima (68) sowie der Einfluß von grenzflächenaktiven Verbindungen (350, 447) zu erwähnen.

Es wurde eine Anzahl von *Beschreibungen* des *polarographischen Verhaltens* unter bisher nicht untersuchten Bedingungen bzw. bei bisher nicht studierten Verbindungen in der anorganischen (340, 530, 674, 716, 854) sowie in der organischen (727, 766, 786, 804, 847, 861, 875, 884, 1004, 1076, 1087, 1099, 1124, 1182, 1191) Polarographie gegeben.

Unter den *Anwendungen der Polarographie* für die Lösung theoretischer Fragen wurde das Studium der Komplexverbindungen (42, 674, 797, 868, 991), der Konstitutionseinflüsse (740, 829, 895, 904) und der Homogenkinetik (288) erwähnt. Unter den praktischen analytischen Anwendungen überwie-

gen diejenigen in der Biochemie, Biologie und Medizin (223, 500, 524, 591, 924, 933, 1011, 1027, 1032, 1048, 1057, 1067, 1076, 1087, 1093, 1111, 1142). Weitere Arbeiten sind der anorganischen (489, 509, 517, 538, 551, 584, 606, 652) sowie der organischen (565, 640, 965) Analyse gewidmet.

Für den Kolloidchemiker sind die Fragen der Sorptionserscheinungen an gefällten Hydroxiden (575), die Analyse der Aerosole (991), die Reduktion unlöslicher Verbindungen (1172, 1182) sowie der Einfluß von grenzflächenaktiven Verbindungen (681, 350, 447) auf die polarographischen Kurven von Bedeutung.

Das Werk könnte also den Spezialisten auf verschiedenen Gebieten der Chemie empfohlen werden, wäre nicht ein komplizierender Faktor vorhanden: der relativ hohe Preis. Nach der Meinung des Rezensenten hätte der Preis niedriger liegen können, um es nicht nur den Bibliotheken, sondern auch dem Privatbesitz zugänglich zu machen. Bei Wahl einer anderen Schriftart und eines anderen Formats hätte der Umfang geringer sein können. Ein kleineres Format hätte bei vielen Abbildungen nicht geschadet und eine Reihe von Abbildungen (z. B. Abb. 1, S. 608) konnte weggelassen werden. Und wenn das Werk schon so teuer sein mußte, konnte wenigstens von seiten des Verlages der Einheitlichkeit der redaktionellen Bearbeitung mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden (vgl. z. B. die verschiedenen Literaturangaben, manchmal sogar ohne Initialen oder sogar überhaupt ohne Namen, oder die akademischen Titel, die Angabe der Sektion, wo die Arbeit referiert wurde usw.). – Dem wissenschaftlichen Redakteur kann jedoch nur gratuliert werden, daß es ihm gelang, von allen Vorlesenden ihren Beitrag zu erhalten. *P. Zuman* (Prag)

Clays and Clay Minerals. (Ton und Tonminerale), Band 8. Herausgegeben von *A. Swineford*. 292 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1960, Pergamon Press). Preis: geb. 63 s.

Der neueste, 8. Band der Serie „Clays and Clay Minerals" enthält 21 Arbeiten, an denen 39 Autoren beteiligt sind. Die Arbeiten sind auf der 8. Konferenz des Clay Minerals Committee of the National Academy of Sciences – National Research Council im Oktober 1959 in Oklahoma vorgetragen worden. Es wird nicht ein einziges zentrales Thema behandelt, aber jeweils mehrere Beiträge beschäftigen sich mit Ton/Wasser-Systemen, Ionen-Adsorption, Synthese und Abbau von Tonmineralen, Identifizierung und Vorkommen. Jedem Artikel sind eine Anzahl graphischer Darstellungen, Abbildungen und Tabellen sowie ein Literaturverzeichnis beigegeben. Von allgemeinen Interesse dürften z. B. folgende Beiträge sein: *P. F. Low*, „Viskosität des Wassers in Ton-Systemen" (13 S.); *I. Barshad*, „Thermodynamik der Ad- und Desorption von Wasser an Montmorillonit" (9 S.); *D. T. Oakes* setzt seine Untersuchungen am Montmorillonit/Wasser-System fort (22 S.); *T. Martin*, „Sorption von Wasserdampf an Kaolinit; Entropie der Adsorption" (14 S.); *F. Bernstein*, „Verteilung von Wasser und Elektrolyt zwischen Tonen und NaCl-Lösungen" (38 S.); *E. C. Jonas* und *G. L. Thomas*, „Hydration von unvollständigen Glimmern und Tonen" (10 S.); *G. R. Frysinger*, „Kationen-Austausch an Mischungen von Vermiculit und Biotit" (6 S.). *A. F. Frederichson* und *R. C. Reynolds* machen in ihrer Arbeit (11 S.) wahrscheinlich, daß aus dem B-Gehalt der Illite auf die Salinität des Wassers zur Zeit der Sedimentbildung geschlossen werden kann. Für die mineralogische Diagnostizierung ist neben anderen Beiträgen der von *J. B. Dixon* and *M. L. Jackson* (13 S.) wichtig, der sich mit der quantitativen Bestimmung besonders von Gemengen aus Kaolinit, Vermiculit und Montmorillonit beschäftigt.

Der vorliegende 8. Band der bisher jährlich erschienenen Serie „Clays and Clay Minerals" ist wieder eine Fundgrube für Kolloidchemiker, Mineralogen und Geologen; es ist sehr wünschenswert, daß diese Veröffentlichung der Forschungsberichte auch in den kommenden Jahren fortgesetzt wird.
H. G. F. Winkler (Marburg/L.)

Introduction to Colloid Chemistry (Einführung in die Kolloidchemie). Von *K. J. Mysels*-Los Angeles. XV, 475 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (New York 1959, Interscience Publishers, Inc.). Preis: geb. $ 10.—.

Vom Autor ist dieses Buch als Einführung in Grundlagen und Methodik der Kolloidchemie gedacht und richtet sich an Studierende (es umfaßt etwa den Wissensstoff, der im Rahmen einer einsemestrigen Vorlesung vermittelt werden kann) und Industriechemiker, die sich verhältnismäßig rasch einen gründlichen Überblick über das weite Feld der Kolloide verschaffen müssen.

Nach Art vieler amerikanischer Lehrbücher schließen die einzelnen Kapitel jeweils mit einer Zusammenfassung und einigen gut ausgewählten Aufgaben ab (die Lösungen sind am Ende des Buches zusammengestellt), die das Verständnis des allerdings sehr klar abgefaßten Textes erleichtern. Auch Literaturzitate finden sich jeweils am Kapitelende. Die reiche Ausstattung mit sehr instruktiven Abbildungen ist ebenfalls zu erwähnen. Etwas unglücklich erscheint dem Rezensenten die komplizierte Verwendung von lateinischen, griechischen und deutschen Buchstaben als Symbole in Ableitungen und Formeln, doch ist dem Autor mangels hinreichender internationaler Standardisierung daraus kaum ein Vorwurf zu machen, auch kann ihm der logische Aufbau seines Systems nicht abgesprochen werden.

Der gut aufgegliederte Text (auf fast jeder Seite findet sich mindestens eine Überschrift) geht davon aus, daß Kolloide Teilchen seien, die gleichberechtigt neben kleinen Ionen oder Molekeln stehen, unbeschadet davon, daß bei der Kolloidchemie andere Fakten im Vordergrund stehen als bei der klassischen physikalischen Chemie. Nach kurzer Behandlung der strukturellen Elemente (Aggregation, Teilchengestalt, Flexibilität, Teilchengröße, Polydispersität und Hydratation) wird auf das Verhalten der Kolloide unter dem Einfluß von Gravitation oder nur von *van der Waals*schen Kräften eingegangen. Hieran schließt sich die Diskussion der thermischen Bewegung der Kolloide, dann die der elektrischen Effekte; die drei Schlußkapitel befassen sich mit den optischen Erscheinungen (Brechung, Interferenz und Streuung). Jeweils ist auch das Zusammenwirken des besprochenen Effektes mit den vorher diskutierten Erscheinungen behandelt.

Druck und Ausstattung des Buches sind hervorragend. Es ist vor allem denjenigen als Übersicht zu empfehlen, für die die Kolloidchemie als Randgebiet des eigenen Aufgabenbereiches von Bedeutung ist. *E. Ühlein* (Frankfurt a. M.)

Style Guide for Chemists (Stillehre für Chemiker). Von *L. F.* und *M. Fieser*-Cambridge/Mass. VI, 116 Seiten (New York 1960, Reinhold Publishing Corporation). Preis: geb. $ 2.95.

Durch das Ehepaar *L. F.* und *M. Fieser* wurde das chemische Fachschrifttum durch eine Anzahl wertvoller Beiträge bereichert, von denen sich das in hervorragender Übersetzung vorliegende „Lehrbuch der Organischen Chemie" (s. Rezension Kolloid-Z. 174, 7, 1961) auch bereits einen festen Platz unter den Standardlehrbüchern für die deutschsprachigen Studierenden errungen hat. Diese beiden Autoren haben nun als „Anleitung für andere" aus dem reichen Schatz ihrer Erfahrungen diejenigen Grundsätze und Regeln zusammengestellt, die dem Unerfahrenen den zweckmäßigen stilistischen Aufbau von Publikationen – seien es Dissertationen, Monographien, Forschungsberichte usw. – erleichtern sollen; sie behandeln diese aber unter dem sehr wesentlichen Gesichtspunkt „von Chemikern für Chemiker". Im einzelnen wird die zweckmäßige Anwendung der Satzelemente diskutiert, die zu aussagereichen und leichtverständlichen Sätzen führen können, unter Einschluß der zweckmäßigen Anwendung von Verben, Singular- und Pluralformen, Interpunktion und Betonung. In zwei Kapiteln wird auf die „normbedürftigen" Fakten eingegangen, deren unterschiedliche Anwendung in den einzelnen Fachzeitschriften so leicht zu Verwirrung führen kann, wie Terminologie, Nomenklatur, Reihenfolge in der Aufführung von Formeln, Gebrauch von Abkürzungen für funktionelle Gruppen und physikalische Einheitensymbole, Abkürzungen für Zeitschriftentitel und Form von Schrifttumshinweisen, Korrektur- und Aussprachеregeln. Die über die Abfassung eines Manuskriptes, vor allem die zweckmäßige Technik seiner Überarbeitung, sowie die zum Thema „Vortrag" niedergelegten Gedanken und Empfehlungen lassen die langjährige Erfahrung von erfolgreichen Fachpublizisten und bewährten akademischen Lehrern deutlich erkennen. Es ist schade, daß dieses Werk im wesentlichen auf die Verwendung der englischen Sprache beschränkt ist und somit von deutschen Autoren eigentlich nur dann direkt nutzbringend verwertet werden kann, wenn sie englisch publizieren. Es ist hier nicht der Ort, das Für und Wider der Publikation in einer fremden Sprache zu diskutieren, aber gerade dieses kleine Werk läßt deutlich erkennen, daß die Beschränkung der Ausdrucksmöglichkeiten des Englischen ihm bei der Abfassung von naturwissenschaftlichen Publikationen, für deren Wert eindeutige Definitionen und Beschreibungen zwingend sind, Vorteile gegenüber der Verwendung der deutschen Sprache verschafft. Zweifellos sind es nicht allein politische Gründe, die asiatische oder osteuropäische Autoren in immer stärkerem Maße zur Verwendung der englischen anstelle der deutschen Sprache veranlassen, wenn sie es nicht gleich vorziehen, in ihrer Muttersprache zu publizieren. Abgesehen von diesen Gesichtspunkten läßt aber das Buch des Ehepaars *Fieser* den Mangel an einem analogen Werk für die deutsche Sprache erkennen. Ein Blick in verschiedene deutsche Fachzeitschriften oder gar Dissertationen zeigt leider sehr deutlich, wie notwendig hier ein Leitfaden wäre, zumal dem Studierenden an deutschen Hochschulen kaum Gelegenheit geboten wird, sich die notwendigen Grundbegriffe hierfür anzueignen.

Vom Rezensenten wird ein Kapitel über den logischen Aufbau einer wissenschaftlichen Veröffentlichung oder einer Monographie vermißt, auch wenn solches über den Rahmen eines „Style Guide" hinauszugehen scheint. Allerdings muß eingeräumt werden, daß es auch hierfür entsprechende gute Einführungen in der englischsprachigen Literatur bereits gibt. Im deutschen naturwissenschaftlichen Fachschrifttum ist auch diese Lücke leider noch nicht geschlossen. *E. Ühlein* (Frankfurt a. M.)

Handbook of Filtration (Handbuch der Filtration). Herausgegeben vom Technical Staff der Eaton-Dikeman Company, Mount Holly Springs, Pa. VIII, 124 Seiten mit 45 Abbildungen, einigen Tabellen und 5 farbigen Ausziehkarten (Mount Holly Springs, Pa, 1960, The Eaton-Likeman Company). Preis: geb. $ 2.50.

In dieser Publikation des Technischen Stabes eines Produzenten wird das weite Feld der Filtration durch Papier von den Gesichtspunkten der Theorie und der Praxis aus behandelt. Besondere Kapitel sind der historischen Entwicklung, Retention, Permeabilität sowie den einzelnen Anwendungen gewidmet. Besonders zu erwähnen ist ein Glossarium, das etwa 100 Termini mit ihren Definitionen umfaßt und viel zur terminologischen Klärung auf diesem Sektor beitragen kann.

E. Ühlein (Frankfurt a. M.)

Multilingual Vocabulary of Soil Science (Mehrsprachiges Wörterbuch der Bodenkunde). Von *G. V. Jacks*, *R. Tavernier* und *D. H. Boalch*. XXIII, 430 Seiten (Rom 1960, FAO Editorial Liaison). Preis: geb. $ 4.50.

Dieses durch Zusammenarbeit der nationalen Nomenklaturausschüsse (Deutscher Vertreter: *H. Kuron*, Gießen) im Rahmen der UNESCO entstandene Wörterbuch enthält auf jeder Seite jeweils in 9 Sprachen (Englisch, Französisch, Spanisch, Deutsch, Portugiesisch, Italienisch, Niederländisch, Schwedisch und Russisch) zusammengestellt eine Reihe von speziellen Fachtermini mit ihren Definitionen, die das weite Gebiet der Bodenkunde und ihrer Randgebiete berühren. Es handelt sich um die folgenden Sektoren (Zahlen in Klammern bedeuten Anzahl der jeweils behandelten Termini): Allgemeine Physik (9), Textur und Struktur (27), Wassergehalt (25), Chemie (27), Organische Bestandteile und Humus (20), Biologie und Ökologie (11), Organische Bodenverbesserung (14), Bodenbildung und Morphologie (14), Bodenprofile und Horizonte (30), Geologie, Topographie und Klima (20), Mineralogie und Tonminerale (9), Allgemeine Klassifikation der Böden (14), Organische Böden und Torf (20), Podsolige Böden (9), Gley und Wiesenböden (5), trockene und halbtrockene Böden (16) salzige und alkalische Böden (6), tropische und subtropische Böden (12), intragonale und azonale Böden (11), Terrassieren, Eindämmen und Dränung (11), Bewässerung (14), Erosion (9). Hinweisregister für jede der verwendeten Sprachen ermöglichen das Auffinden der einzelnen Termini und ihrer Übersetzungen in die 8 übrigen Sprachen. Als Schönheitsfehler fällt auf, daß die 22 Sektionsbezeichnungen nur in Englisch, Französisch und Spanisch aufgeführt sind.

Die Bestrebungen der UNESCO zur Herausgabe von mehrsprachigen Fachterminologien kann nicht hoch genug eingeschätzt werden, und es ist zu hoffen, daß die bisher vorliegenden Werke dieser Art auch zur Aktivität auf anderen Fachgebieten anregen. Leider scheitern solche Projekte vielfach daran, daß innerhalb der einzelnen Sprachbereiche

oft noch keine terminologische Klärung erfolgen konnte. Im vorliegenden Falle gelang es leider auch nicht, die unterschiedlichen Definitionen mancher Termini in den verschiedenen Sprachen durch jeweiliges Anfügen einer wörtlichen englischen Übersetzung in den betroffenen Fällen herauszustellen.

E. Ühlein (Frankfurt a. M.)

Zur Besprechung eingegangene Bücher

(Beprechung vorbehalten)

ASTM 1960 Supplements to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 4: Cement, Concrete, Mortars, Road Materials, Waterproofing, Soils. XIV, 240 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960, American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part. 5: Masonry Products, Ceramics, Thermal Insulation, Acoustical Materials, Sandwich, and Building Constructions, Fire Tests. XII, 238 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960. American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 6: Wood, Paper, Shipping Containers, Adhesives, Cellulose, Leather, Casein. XI, 212 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960. American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 7: Petroleum Products, Lubricants, Tank Measurement, Engine Tests. XIV, 320 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960, American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 8: Paint, Naval Stores, Coal, and Coke, Aromatic Hydrocarbons, Gaseous Fuels, Engine Antifreezes. XII, 210 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia, Pa. 1960, American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 9: Plastics, Electrical Insulation, Rubber, Carbon Black. XVII, 494 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960, American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

ASTM 1960. Supplement to Book of ASTM Standards including Tentatives. Part 10: Textiles, Soap, Water, Atmospheric Analysis, Wax Polishes. XIV, 334 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Philadelphia 1960, American Society for Testing Materials). Ohne Preisangabe.

Bikerman, J. J.-Cambridge: **The Science of Adhesive Joints.** VIII, 258 Seiten mit 114 Abbildungen (New York 1961, Academic Press, Inc.). Ohne Preisangabe.

Durham, K., H. E. Garrett, T. G. Jones, A. S. C. Lawrence, D. G. Stevenson: **Surface Activity and Detergency.** XIII, 250 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (London 1961, Macmillan & Co., Ltd.). Preis: Geb. 35 s.

Ernst, R.: **Fachwörterbuch der Chemie, Band 1 – Deutsch-Englisch.** 727 Seiten (Wiesbaden 1961, Oscar Brandstetter Verlag). Preis: Geb. DM 39,—.

Gebr. Haake-Berlin: **Rheologie und Rheometrie mit Rotationsviskosimetern unter besonderer Berücksichtigung von Rotovisko und Viscotester.** 51 Seiten mit 5 Abbildungen, 4 Kurventafeln und 3 Tabellen (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961, Springer-Verlag). Preis: Brosch. DM 10,—.

Miessner, H. und *U. Grigull*: **Fortschritte der Verfahrenstechnik, Band 4, 1958/1959.** XIX, 982 Seiten mit 109 Abbildungen und 76 Tabellen (Weinheim 1961, Verlag Chemie). Preis: Geb. DM 99,—.

Moilliet, J. L., B. Collie, W. Black: **Surface Activity. 2. Auflage, Part I.** XVI, 518 Seiten mit einigen Abbildungen und Tabellen (London 1961, E. & F. N. Spon Ltd.). Preis: Geb. 75 s.

Nerdel, F.-Berlin: **Organische Chemie.** XI, 181 Seiten mit 13 Abbildungen und einigen Tabellen (Berlin 1961, Verlag Walter de Gruyter & Co). Preis: Geb. DM 16,80.

Peinke, W.-Ludwigshafen: **Meß- und Regelungstechnik. 2. Auflage.** 100 Seiten mit 76 Abbildungen (München 1961, Carl Hanser Verlag). Preis: Kart. DM 13,—.

Pollack, A. und *P. Westphal*: **Metall-Reinigung und -Entfettung.** (Schriftenreihe Galvanoplastik, Band 7.) 216 Seiten mit 77 Abbildungen und 18 Tabellen (Saulgau 1961, Eugen G. Leuze). Preis: Geb. DM 16,50.

Sandorfy, C.-Montreal, übersetzt und bearbeitet *H. v. Hirschhausen*-Frankfurt. **Die Elektronenspektren in der theoretischen Chemie.** 208 Seiten mit 118 Abbildungen und 38 Tabellen (Weinheim 1961, Verlag Chemie). Preis: DM 28,—.

Suits, C. G.-New York und *H. E. Way*: **The Collected Works of Irving Langmuir. Vol. 8.** Thermionic Phenomena. XXVIII, 481 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1961, Pergamon Press). Preis: Geb. £ 5.

Suits, C. G.-New York und *H. E. Way*: **The Collected Works of Irving Langmuir. Vol. 5.** Plasma and Oscillations. XX, 261 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1961, Pergamon Press). Preis: geb. £ 5.

Thewlis, J.-Harwell und *R. C. Glass, D. J. Hughes, A. R. Meetham*: **Encyclopaedic Dictionary of Physics.** Vol. 1. XV, 800 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen (Oxford 1961, Pergamon Press). Preis: 80 s.

Referate

2. Grundwissenschaften

c) Anorganische Chemie

Bergeron, C. G., V. J. Tennery u. *A. L. Friedberg* (Dept. of Ceram. Engineering, Univ. of Illinois, Urbana, Ill. USA). **Reaktionsstudie an Wolfram mit keramischem Überzug.** (J. Amer. Ceram. Soc. **44**, 156–160, 1961.)

Bei 10stündigem Erhitzen von W-Draht, der mit einem Überfang aus Zr und Glas bedeckt war, auf 3000 °F in Luftatmosphäre, wurde durch Röntgenaufnahmen nachgewiesen, daß sich der Überfang in monoklines ZrO_2 und Glasphase umgewandelt hatte. Als Reaktionsmechanismus wird allmähliches Eindiffundieren von Sauerstoff angenommen, wobei ZrO_2 gebildet und gleichzeitig ein Teil des W oxydiert und im Glas gelöst wird.

E. Gruner (Mettlach/Saar)

Bratschun, W. R. u. *R. L. Cook* (Dept. of Ceramic Engeneering, Univ. of Illinois, Urbana, Ill., USA). **Dielektrische Eigenschaften von festen Lösungen von Natriumniobat/Bleizirkonat und Natriumniobat/Bleititanat.** (J. Amer. ceram. Soc. **44**, 136–140, 1961.)

Feste Lösungen von Na-Niobat mit begrenzten Zusätzen an Bleizirkonat (bis 15 Mol%) ergeben zwischen —175° und 300° eine Erhöhung der Dielektrizitätskonstante mit Maximum von 1345 bei 6 °C; solche mit Bleititanat (bis 25 Mol%) mit Maxima von 675 bei 30° und 4670 bei 154°. Feste Lösungen mit 10 bis 50 Mol% Bleititanat sind ferroelektrisch. Induzierte Ferroelektrizität ergibt sich bei einem Zusatz von 5 Mol% Bleititanat. Remanente Polarisation von 15 Microcoulombs/cm² bei einer Koerzitivkraft von 7800 V/cm wurde bei der Zusammensetzung 0,85 $NaNbO_3$ bis 0,15 $PbTiO_3$ beobachtet. *E. Gruner* (Mettlach/Saar)

Holmquist, W. R., C. F. Kooi u. *R. W. Moss* (Res. Labor. Lockheed Aircraft Corp., Palo Alto, Calif., USA). **Reaktionskinetik von polykristallinem Yttrium-Eisengranat.** (J. Amer. Ceram. Soc. **44**, 194–196, 1961.)

Durch Röntgenaufnahmen und magnetische Messungen wird die Bildung von Yttrium-Eisengranat $[Y_3Fe_2(FeO_4)_3]$ aus Y_2O_3 und Fe_2O_3 als Funktion von Temperatur und Zeit bestimmt. Die Reaktion beginnt bei 600° und ist bei 1200° beendet. Während zwischen 600° und 800° eine Perowskitphase entsteht, ist bei und oberhalb 1200° nur die Granatphase existent. Verunreinigungen der Ausgangsstoffe, vor allem bei Verwendung von Fe_3O_4 an Stelle von Fe_2O_3 können die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflussen. *E. Gruner* (Mettlach/Saar)

Iida, Y. u. *S. Ozaki* (Governm. Ind. Res. Inst., Kita-ku, Nagoya, Japan). **Kornwachstum und Phasenumwandlung von Titandioxid während des Calcinierens.** (J. Amer. Ceram. Soc. **44**, 120–127, 1961.)

Kornwachstum von TiO_2 durch Erhitzen seiner Verbindungen und die Phasenumwandlung Anatas/Rutil können beeinflußt werden: 1. Durch die Wahl der Ausgangssubstanz, z. B. Hydroxid aus verschiedenen Ti-Salzen, Ti-Ammoniumsulfat, Oxalat. 2. Durch verschieden hohe Temperatur. 3. Durch Zusätze (1 Mol%) von Metallsalzen. Verwendet werden die Oxide von Ni, Co, Mn, Fe, Cu, Mo, W, Cr, Na, wobei entweder Hemmungen oder Steigerungen des Kornwachstums und (oder) der Phasenumwandlung bemerkt wurden. 4. Das gleiche gilt für die Einwirkung der umgebenden Atmosphäre und deren Partialdrucke beim Erhitzen in O_2, H_2, Ar, Luft bzw. im Vakuum. Die sehr heterogenen Einzelergebnisse müssen dem Original entnommen werden. *E. Gruner* (Mettlach/Saar)

Lefever, R. A., A. B. Chase u. *J. W. Torpy* (Hughes Res. Labor. Malibu, Cal., USA). **Charakteristische Baufehler bei in Flußmitteln gewachsenen Kristallen von Yttrium-Eisengranat.** (J. Amer. Ceram. Soc. **44**, 141–144, 1961)

Mikroskopische und elektronenmikroskopische Studien an in Flußmitteln (PbO- bzw. PbO/PbF_2-Schmelze) bei 1350° bis 1400° bzw. 1200° gewachsenen Yttrium-Eisengranat-Kristallen ergaben, daß das Wachstum mit einem dendritischen Kern beginnt, dessen Arme dodekaedrisch nach ⟨100⟩ und ⟨111⟩ orientiert sind, gefolgt von einem Schichtenwachstum nach {110} und {211}. Die äußeren Schichten des Kristalls enthalten orientierte Fremdstoffeinschlüsse in den äußeren und mittleren Wachstumsschichten. Die äußeren, durch Einschlüsse opaken Schichten enthalten submikroskopische etwa 0,1 μ große, nicht definierbare, kubische und kubooktaedrische, FeO-haltige Kriställchen, erkennbar nach Ätzung mit 20%iger HCl. Ihre Bildung kann weitgehend unterdrückt werden, wenn das Wachstum in O_2-Atmosphäre erfolgt.
E. Gruner (Mettlach/Saar)

d) Organische Chemie

Blokh, G. A. (Chem. Technol. Institut, Dnepropetrovsk, UdSSR). **Untersuchung der paramagnetischen Elektronenresonanz bei der Vulkanisation.** (Dokl. Akad. Nauk SSSR **129**, 361–364, 1959. Vgl. Rubber Chem. Technol. **33**, 1005–1009, 1960.)

Die Vulkanisation von Naturkautschuk und Polyisobutylen mittels Tetramethylthiuramidsulfid (TMTD) wurde sowohl in Gegenwart von ZnO und Stearinsäure als auch ohne Zusätze durch Messungen der Elektronenresonanz verfolgt und mit der reinen Schwefelvulkanisation verglichen. Die beobachteten Elektronenresonanzspektren sind in Abhängigkeit von Vulkanisationszeit und Vulkanisationstemperatur beschrieben. Auf Grund der Spektren verläuft die Thiuramvulkanisation über Radikale, während die reine Schwefelvulkanisation nicht radikalisch ist, da keine paramagnetischen Resonanzspektren beobachtet werden können. Die Konzentration der z. B. bei Vulkanisation von Naturkautschuk mit 3% TMTD zu beobachtenden Polymerradikale ist ungefähr 4×10^{-7} Mol/g. Zinkoxid und Stearinsäure verändern den Charakter der Spektren nicht. Beim Mastizieren von Naturkautschuk entstehen Peroxyradikale. Bei der Vulkanisation von Polyisobutylen sind keine Radikale zu beobachten. – Es wird ein Mechanismus der Thiuramvulkanisation vorgeschlagen, der auf der Annahme gründet, daß die Kautschukmoleküle über C-C-Brücken vernetzt werden.
G. Kemme (Hannover)

Blokh, G. A. (UdSSR). **Über die Beweglichkeit der Schwefelatome während der Vulkanisation.** (Legkaya Prom. **14**, 45–47, 1954. Vgl. Rubber Chem. Technol. **33**, 1010–1014, 1960.)

Mit Hilfe radioaktiven Schwefels wurde nachgewiesen, daß unter den Bedingungen der Vulkanisation (145°) zwischen Mercaptobenzothiazol und Schwefel, Tetramethylthiuramdisulfid und Schwefel, Mercaptobenzothiazol und Thiuramdisulfid sowie Sulfenamidbeschleunigern und Schwefel ein Austausch der Schwefelatome stattfindet. Schwefelwasserstoff ist gleichfalls an einem derartigen Austausch beteiligt. Zwischen Zinksulfid und Mercaptobenzothiazol findet dagegen bei 145° kein Austausch statt, weil beide Komponenten im festen Zustand vorliegen. Durch die Gegenwart von Zinkoxid werden alle Austauschreaktionen verzögert, was möglicherweise mit der Neigung des Zinks zur Komplexbildung zusammenhängt. – Bei mit Tetramethylthiuramdisulfid vulkanisiertem Styrol-Butadienkautschuk, der monosulfidische Schwefelbrücken enthält, ist der gebundene Schwefel nicht austauschbar, während bei der mit Diphenylguanidin beschleunigten Schwefelvulkanisation der gebundene Schwefel teilweise ausgetauscht werden kann. Letzteres kann auf das Vorliegen polysulfidischer Vernetzungsstellen zurückgeführt werden.
G. Kemme (Hannover)

Dogadkin, B. A., V. A. Shershnev u. *A. V. Dobromislova* (Lomonosov-Instit. f. Chem. Technol., Moskau, USSR). **Reversion bei der Thiuramvulkanisation.** (Vysokomol. Soed. **2**, 514–517, 1960. Vgl. Rubber Chem. Technol. **33**, 1068–1071, 1960.)

Bei der Vulkanisation von Naturkautschuk oder Styrol-Butadienkautschuk mittels Tetramethylthiuramdisulfid (TMTD) in Abwesenheit von Metalloxiden oder auch in Gegenwart von MgO bzw. CaO zerfällt die entstehende Dithiocarbamidsäure in Schwefelkohlenstoff und Dimethylamin. Dabei ist ein Rückgang der Vernetzungsdichte der Vulkanisate im Vergleich zu derjenigen, die mit TMTD bei Anwesenheit von Zinkoxid erreicht wird, zu beobachten. Führt man die Vulkanisation in einer Argonatmosphäre unter völligem Luftausschluß durch, entsteht zwar auch Schwefelkohlenstoff und Dimethylamin, es ist aber kein Rückgang der Vernetzung zu beobachten. Bei Anwesenheit von Zink-

oxid in der Mischung entstehen keine flüchtigen Reaktionsprodukte. Eine Reversion der Vernetzung wird in diesem Fall erst oberhalb 160° in geringem Maße beobachtet. Die Reversion wird in allen Fällen als oxydativer Abbau gedeutet, da sie durch Antioxydantien verhindert werden kann.

G. Kemme (Hannover)

e) Mineralogie und Kristallographie

Kleber, W. u. *J. Mietz* (Miner.-Petrol. Inst. d. Humboldt-Univ., Berlin). **Aufwachsungen auf korrespondierenden Spaltflächen.** (Naturwiss. **48**, 499, 1961.)

Bei Epitaxie-Versuchen mit d-Campher wird eine eindeutige Korrelation orientiert aufgewachsener Kristalle auf Gegen-Spaltflächen des Biotit gefunden. *H. H. Pfeiffer* (Bremen)

Waidelich, W., W. von der Osten u. *H. Peisl* (Physik. Inst. d. Techn. Hochsch. München). **Der Einfluß von Versetzungen auf die Bildung von Anionen-Lücken bei Röntgenbestrahlung von NaCl-Kristallen.** (Naturwiss. **48**, 449–450, 1961.)

Um zu entscheiden, ob die Bildung zusätzlicher Anionenlücken bei Verfärbung von Alkalihalogenid-Kristallen mit Röntgenstrahlen auf Freigabe der Gitterplätze durch die Anionen (wegen Mehrfachionisation) oder auf Begünstigung der Lückenbildung durch Versetzungen beruht, ist an NaCl-Einkristallen die Abhängigkeit der Erscheinung von der Versetzungsdichte geprüft worden. Die Befunde stützen den letzteren Mechanismus, sind aber mit ersterem nur durch weitere Annahmen vereinbar.

H. H. Pfeiffer (Bremen)

f) Biologie und Medizin

Anderson, A. J. (Roy. Nat. Orthopaedic Hosp., Stanmore, Middlesex, Großbritannien). **Die Fraktionierung von menschlichem Knorpel-Chondromucoprotein.** (Biochem. J. **79**, 19P–20P, 1961.)

Das aus menschlichem Knorpel bei p_H 10,6 extrahierte Chondromucoprotein (Fraktion A) wurde an Diäthylaminoäthylcellulose-Säulen unter Verwendung von Tris- und Citratpuffer chromatographiert. Cirka 30% wurden bei p_H 8,6, 20 mmol, nicht adsorbiert (Subfraktion A). Diese Fraktion ist sehr viskos. Bei Elution mit 20 mmol. Puffer, p_H 7,4, erhält man die Subfraktion B, drei weitere Subfraktionen (C, D, E) mit 50 mmol. Puffer, p_H 6,1, und einem NaCl-Gehalt von 0,3 bzw. 0,7 bzw. 1,0 mol. Anschließende Elution mit Alkali bei p_H 11,7 gibt die Subfraktion F. Die Fraktionen B, C, E, F enthalten beträchtliche Mengen Sialsäure und Protein und nur Spuren von Hexuroniden. Im menschlichen Mucoprotein kommen also Glycoproteine und Proteine vor, die nicht mit Mucopolysacchariden assoziiert sind. Subfraktion A wird durch folgende Fermente abgebaut (Viskositätsabnahme): Papain, Trypsin, Testikel-Hyaluronidase, Streptokinase-aktiviertes Plasminogen. In keinem Falle wurde dabei Sialsäure in Freiheit gesetzt. – Die Abspaltung von Sialsäure aus der Subfraktion A mittels des „receptor destroying enzyme" aus Cholera-Vibrionen-Filtrat beeinflußt die Viskosität der Fraktion nicht. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Butt, W. R., A. C. Crooke, F. J. Cunningham u. *A. J. Evans* (United Birmingham Hospitals, Birmingham, England). **Chemische Reaktionen, die die biologische Aktivität von menschlichen Gonadotropinen beeinflussen.** (Biochem. J. **79**, 64–70, 1961.)

Die Wirkung verschiedener Stoffe auf die Aktivität von menschlichen Gonadotropinen aus Harn und Hypophyse wurde untersucht. Während alle getesteten Stoffe die Follikel-stimulierende und die Interstitialzellen-stimulierende Aktivität der Gonadotropine in gleicher Weise beeinflussen, wird durch Reduktion mit Natriumborhydrid die Interstitialzellen-stimulierende Aktivität mehr herabgesetzt als die Follikel-stimulierende Aktivität. – Ausfällung der Harn-Gonadotropine mit Zink, Kupfer oder Triazinfarbstoffen beeinflußt die Aktivität nicht. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Cliffe, E. E. u. *S. G. Waley* (University of Oxford, England). **Saure Peptide der Augenlinse. 6. Stoffwechsel von γ-Glutamylpeptiden in subzellulären Fraktionen der Kaninchenleber.** (Biochem. J. **79**, 118–128, 1961.)

Die intrazelluläre Verteilung der Enzyme, die die Synthese und den Abbau von Glutathion und Ophthalmsäure katalysieren, wurde in der Kaninchenleber untersucht. Die Synthese der Peptide verläuft in gleicher Weise. Beide Tripeptide werden nur von der nach Zentrifugierung überstehenden Lösung (19000 g, 60 Min.) aus den Bestandteilen synthetisiert. Die Hydrolyse von Glutathion dagegen wird von der Nuclearfraktion katalysiert, ebenso wie Transpeptidierungsreaktionen. – Ophthalmsäure wird sowohl von der Nuclearfraktion als auch von der überstehenden Lösung abgebaut. Mit der Nuklearfraktion wird Ophthalmsäure in ihre Bestandteile zerlegt (Glutaminsäure, α-Amino-n-buttersäure, Glycin). Der durch die überstehende Lösung katalysierte Abbau der Ophthalmsäure führt zu 5-Oxopyrrolidin-2-carbonsäure. Dieser Abbau ist dem Ferment γ-Glutamyl-Lactamase zuzuschreiben, das in der überstehenden Lösung enthalten ist, während die Hydrolyse in die Bestandteile ebenso wie die Transpeptidierungen auf das Ferment γ-Glutamyl-Transpeptidase zurückzuführen sind, das in der Nuklearfraktion enthalten ist. – In der Augenlinse ist nahezu alles Protein in der überstehenden Lösung enthalten und praktisch keines in den Teilchenfraktionen. In Übereinstimmung damit wird die Synthese von Glutathion und Ophthalmsäure durch Linsenextrakte katalysiert, während Fermente, die in den Teilchenfraktionen lokalisiert sind, nicht nachgewiesen werden können.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Dedman, M. L., H. T. Farmer u. *C. O. R. Morris* (London Hospital Medical College, London, Großbritannien). **Untersuchungen an Hypophysen-Adrenocorticotrophin. Identifizierung des Oxydations-Reduktionszentrums.** (Biochem. J. **78**, 348–352, 1961.)

Die Produkte des tryptischen Abbaus von Corticotrophin A und oxydiertem Corticotrophin wurden getrennt und mittels Chromatographie an Carboxymethylcellulose verglichen. Es unterschieden sich nur die N-terminalen Peptide. Während das oxydierte Hormon Methioninsulfoxyd enthält, enthält das unbehandelte Hormon Methionin. Auch mit *Raney*-Nickel behandeltes Corticotrophin enthält im Gegensatz zu früheren Untersuchungen Methionin. Aus den Ergebnissen und der biologischen Aktivität der Stoffe geht hervor, daß das Oxydations-Reduktions-Zentrum des Corticotrophins A_1 die Thioäthergruppe des Methionins ist.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Hedbom, A. (Univ. of Uppsala, Schweden). **Ein nativer Cobalamin-Polypeptidkomplex aus der Leber: Aminosäurenzusammensetzung und terminale Aminosäurenanalysen des Peptidanteiles.** (Biochem. J. **79**, 469–475, 1961.)

Die Aminosäurenzusammensetzung und die C- und N-terminalen Aminosäuren des Cobalamin-Polypeptidkomplexes aus Rinderleber wurden bestimmt. Das Polypeptid besteht aus einer einzigen Kette von 80 Aminosäuren in folgender Zusammensetzung: Gly_{22}; Ala_9; Thr_8; Val_4; Leu_{10}; $Ileu_1$; Asp_4; Glu_5; Tyr_4; His_6; $(CysSH)_2$; Pro_3; Lys_2. Glycin ist die C-terminale und Histidin die N-terminale Aminosäure. Das aus der Bruttozusammensetzung berechnete Molekulargewicht von 9028 steht in guter Übereinstimmung mit dem auf andere Weise früher ermittelten Molekulargewicht (9129 aus Kobaltgehalt, 9053 aus Absorptionsspektroskopie). Behandlung mit Perameisensäure zur Spaltung eventuell vorhandener S-S-Brücken führte nicht zur Bildung kleinerer Peptidketten, d. h. das Cystin bildet wahrscheinlich einen Ring. – Besonders auffällig ist der hohe Glycingehalt (16,27%). *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Milstein, C. u. *F. Sanger* (Univ. of Cambridge, Großbritannien). **Eine Aminosäurenfolge im aktiven Zentrum von Phosphoglucomutase.** (Biochem. J. **79**, 456–469, 1961.)

Die Herstellung von ^{32}P-markierter Phosphoglucomutase durch Reaktion von Phosphoglucomutase mit Glucose-6-^{32}P-phosphat bzw. mit Glucose-1-^{32}P-phosphat wird beschrieben. Das markierte Enzym wurde mittels Trypsin oder Säure partiell hydrolysiert, und anschließend wurden die gebildeten ^{32}P-Peptide durch Hochspannungselektrophorese gereinigt. Die Zusammensetzung der Peptide im sauren Hydrolysat wurde durch weitere Partialhydrolyse und durch *Edmann*schen Abbau bestimmt. Aus den Ergebnissen folgt, daß die Aminosäurenfolge in Nachbarschaft des Serinphosphatrestes (SerP) gleich Thr. Ala. SerP. His. Asp (oder $AspNH_2$) ist. Die Aminosäurenfolge in Nachbarschaft des Serinphosphatrestes ist somit in keiner Weise der Aminosäurenfolge in anderen Fermenten ähnlich, die ebenfalls mit Diisopropylfluorphosphat reagieren. – Die in dieser Arbeit angewandte Methode zur Identifizierung von Peptiden durch radioaktive Markierung einer bestimmten Stelle des Proteins erleichtert die Auftrennung von Partialhydrolysaten höhermolekularer Proteine wesentlich. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Morell, D. B., J. Barrett u. *P. S. Clezy* (Royal North Shore Hospital, Sydney, Australien). **Die prosthetische Gruppe von Cytochrom-Oxydase. 1. Mitt.: Reinigung als Porphyrin a und Umwandlung in Hämin a.** (Biochem. J. **78**, 793–797, 1961.)

Eine Methode zur Gerinnung von Porphyrin a mit einer Reinheit von ca. 85% wird beschrieben. Als Ausgangsmaterial dient Rinderherz. Die angewandte Reinigungsmethode umfaßt Präzipitation mit organischen Lösungsmitteln, Chromatographie an Cellulosesäulen, Hitzebehandlung (60–80°, Vakuum) und Salzsäureextraktion. Die Bedingungen für die Umwandlungen von Hämin a in Porphyrin a und umgekehrt werden beschrieben. – Die Kristallisation des Porphyrins oder Hämins gelang nicht.
R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Parker, W. C. u. *A. C. Bearn* (Rockefeller-Institute, New York, N. Y., USA). **Veränderungen im Sialsäuregehalt von menschlichem Transferrin.** (Science **133**, 1014–1016, 1961.)

Behandlung von normalem menschlichem Transferrin C mit Neuraminidase spaltet von dem vorher bei Stärkegelelektrophorese einheitlichen Transferrin C vier langsamer wandernde, eisenbindende Komponenten ab. Das Verhältnis der Komponenten zueinander hängt von der Neuraminidasekonzentration bzw. von der Inkubationszeit ab. Sialsäurebestimmungen nach Stärkeblockelektrophorese deuten darauf hin, daß die unterschiedliche elektrophoretische Beweglichkeit der Fraktionen auf stufenweise Abspaltung der Sialsäure zurückzuführen ist. Nachdem alle Sialsäure abgespalten ist, läßt sich durch weitere Erhöhung der Neuraminidasekonzentration oder verlängerte Inkubationszeit keine Veränderung der elektrophoretischen Beweglichkeit mehr erreichen. – Da das elektrophoretische Verhalten abnormaler Transferrine Ähnlichkeiten mit dem von Neuraminidase-behandelten normalen Transferrin aufweist, wurde eine Methode zur Reinigung der genetischen Transferrinvariante B_2 entwickelt.
R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Partridge, S. M., H. F. Davis u. *G. S. Adair* (Low Temperature Res. Stat., Cambridge, Großbritannien). **Die Chemie von Bindegewebe. 6. Mitt.: Die Zusammensetzung des Chondroitinsulfat-Protein-Komplexes in Knorpel.** (Biochem. J. **79**, 15–26, 1961.)

Das Polysaccharid-Kettengewicht C_n

$$\left(C_n = \frac{180 \times 1000}{\text{Glucose-Äquivalent}}\right)$$

(Glucose-Äquivalent = Reduktionsvermögen von 1 g Substanz in mg Glucose ausgedrückt) von Chondroitinsulfat-Protein-Komplexen aus hyalinem Knorpel des Rindes wurde durch Messung des Reduktionsvermögens des terminalen Restes bestimmt und mit dem osmotisch ermittelten Molekulargewicht (M_n) verglichen. Die aus frischem Knorpel hergestellten Komplexe hatten einen M_n-Wert von 1 bis $5 \cdot 10^6$, während der M_n-Wert der Komplexe aus getrocknetem und gepulvertem Knorpel bei 140000 lag. C_n hatte im ersten Falle den Wert von 50×10^3, im letzteren von 18000. Der Komplex aus getrocknetem Knorpel ist also z. T. abgebaut. Das „osmotische Molekül" des Komplexes aus frischem Knorpel enthält 20 bis 100 Chondroitinsulfatketten mit reduzierenden Endgruppen. Bei Behandlung des Komplexes mit Papain sinkt M_n auf $28 \cdot 10^3 \pm 2000$, während C_n unverändert bleibt. Das weist darauf hin, daß die Chondroitinsulfatketten in dem Komplex durch Protein zusammengehalten werden und daß die reduzierenden Endgruppen eines Teiles der Chondroitinsulfatketten vor der Papainbehandlung maskiert sind. Bei Behandlung des Komplexes mit Hyaluronidase und anschließender Ultrafiltration zur Entfernung von Abbauprodukten des Chondroitinsulfates wurde der Chondroitinsulfatgehalt des Rückstandes um ca. 30% vermindert und C_n war 7730. M_n des proteinreichen Rückstandes war $170 \cdot 10^3$, d. h. es waren noch 23 Chondroitinsulfatketten mit kürzerer Kettenlänge vorhanden. Das Reduktionsvermögen des Komplexes war nach der Hyaluronidasebehandlung und Ultrafiltration unverändert. Jede Chondroitinsulfatkette ist also nur an einer Stelle mit dem Protein verknüpft. Auf Grund der Ergebnisse wird ein Modell für die Struktur des Chondroitinsulfat-Protein-Komplexes entwickelt. Der Komplex besteht demnach in Lösung aus einem Makromolekül M_n 1 bis $5 \cdot 10^6$ oder aus

einem Aggregat kleinerer Moleküleinheiten mit M_n mindestens $750 \cdot 10^3$. Diese Einheiten enthalten mindestens 23 Chondroitinsulfatketten mit C_n $28 \cdot 10^3$, die mittels einer einzigen Bindung an einen Proteinkern gebunden sind, wobei das reduzierende Ende des Chondroitinsulfats nicht in die Bindung eingeht. Der Proteinkern trägt ferner einen zweiten Polysaccharidanteil, der reich an Galactose und Glucosamin ist.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Partridge, S. M. u. *D. F. Elsden* (Low Temperature Res. Stat., Cambridge, Großbritannien). **Die Chemie des Bindegewebes. 7. Mitt.: Dissoziation des Chondroitinsulfat-Protein-Komplexes aus Knorpel mit Alkalien.** (Biochem. J. 79, 26–32, 1961.)

Die Dissoziation des Chondroitinsulfat-Protein-Komplexes aus hyalinem Knorpel wurde in alkalischer Lösung unter Verwendung von einem im einzelnen beschriebenen Apparat zur Zonenelektrophorese in Säulen mit Dichtegradienten untersucht. Der Komplex ist in NaOH-Rohrzucker-Lösung p_H 10,8 stabil, während er bei 24stündiger Behandlung mit 0,5 n Natronlauge bei 25° irreversibel dissoziiert. Sowohl der Protein-, als auch der Kohlenhydratbestandteil wird dabei etwas abgebaut. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die Polysaccharidketten mit dem Protein durch Kovalenzbindungen verknüpft sind (vgl. voranstehendes Referat). Die durch Alkalibehandlung freigesetzte Proteinfraktion wurde chromatographisch an Amberlite IRC-50 untersucht. Eine einwandfreie Trennung der Fraktionen gelang nicht; die in zwei teilweise voneinander getrennten Gruppen eluierten Proteine unterschieden sich analytisch nicht. Sie enthielten kein Oxyprolin, hatten gleiche Tyrosin: Tryptophan-Verhältnisse und ähnliche Aminosäurezusammensetzung. Der Gehalt an Kohlenhydrat war unterschiedlich. Höchstwahrscheinlich sind die Fraktionen bei der Alkalieeinwirkung aus einem einzigen Kohlenhydrat-haltigen nativen Protein entstanden. – Der Kohlenhydratanteil des Proteins war reich an Glucosamin und Galactose. Andere Neutralzucker waren nur in Spuren vorhanden. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Platt, D., W. Pigman u. *H. L. Holley* (Univ. of Pittsburgh, Pa.; Univ. of Alabama Med. Center, Birmingham, Ala., USA). **Die Wirkung von Testikular-Hyaluronidase auf die Hyaluronsäurekomplexe menschlicher Synovialflüssigkeit.** (Biochem. J. 79, 605–608, 1961.)

Menschliche Synovialflüssigkeit wurde vor und nach Behandlung mit Hyaluronsäure der *Tiselius*-Elektrophorese unterworfen. Nach Hyaluronidasebehandlung ist die elektrophoretische Beweglichkeit der Synovialproteine deutlich herabgesetzt. Die Werte nähern sich denen der Blutserum-Proteine. Beweglichkeiten vor und nach Hyaluronsäurebehandlung: Albumin 7,3–8,8 bzw. 6,4–6,7; α_1-Globulin 6,2–7,3 bzw. 5,4–5,7; α_2-Globulin 5,2 bis 6,4 bzw. 4,5–5,0; β-Globulin 3,7–5,9 bzw. 3,4. bis 3,8; γ-Globulin 1,5–2,1 bzw. 1,4–1,8. Die π-Komponente, ein Komplex aus Hyaluronsäure und Albumin ist nach Hyaluronsäurebehandlung nicht mehr nachweisbar.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

g) Andere Wissenschaften

Braitsch, O. (Miner.-petrogr. Inst. d. Univ. Göttingen). **Zur Entstehung der Staßfurter Salzfolge.** (Naturwiss. 48, 402, 1961.)

Die vorgefundene Folge ist mit Lösungsgleichgewichten der Salze bei einfacher Verdunstung allein nicht erklärbar, sondern es sind periodische Nachflüsse in ein vom Ozean durch eine Barre weitgehend isoliertes und allmählich stärker konzentriertes Nebenmeer bei sonst konstanter Verdunstung anzunehmen; weitere Details siehe in der Arbeit. *H. H. Pfeiffer* (Bremen)

Krauskopf, K. B. (Stanford-Univ., California). **Übersicht über moderne Ansichten zur physikalischen Chemie erzbildender Lösungen.** (Naturwiss. 48, 441–445, 1961.)

Dieser Bericht über die Entstehung der Erzlagerstätten untersucht zuerst die Ausscheidung erzbildender Lösungen aus abkühlenden Magmen oder metamorphosierten Sedimenten, wobei der Stand der Bemühungen um Einflüsse der Temperaturen, Drucke und Lösungszusammensetzungen diskutiert werden. Eigene Abschnitte werden den Löslichkeiten von Sulfiden und der Flüchtigkeit von Schwermetallverbindungen gewidmet. Aus den erkannten Vorstellungsschwierigkeiten scheinen experimentell noch zu bestätigende Annahmen, wie die Bildung komplexer Ionen bei niederen Temperaturen und der Transport in verdichtetem Wasserdampf gelöster Metallverbindungen bei hohen Temperaturen, herauszuführen.

H. H. Pfeiffer (Bremen)

5. Makromolekulare Systeme

a) Natürliche Makromoleküle (Proteine, Kohlenhydrate, Nucleinsäuren, Kautschuk)

Bianchi, P. A. u. *K. V. Shooter* (Royal Cancer Hospital, London, Großbritannien). **Die Sedimentationscharakteristika von Desoxyribonucleinsäure aus menschlichen Geweben.** (Biochem. J. 78, 372 bis 376, 1961.)

Das Sedimentationsverhalten von Desoxyribonucleinsäurepräparaten aus normalen und pathologischen menschlichen Geweben wurde in Konzentrationen von 0,001 bis 0,0015% in der Ultrazentrifuge bestimmt. Die durchschnittliche Sedimentationskonstante von normalem Ausgangsmaterial betrug 25–27 S. In pathologischen Fällen können sowohl Abweichungen nach oben als unten vorkommen. Zwischen dem Sedimentationskoeffizienten und dem Proteingehalt besteht keine Korrelation, d. h. die Variation des Sedimentationsverhaltens verschiedener Proben scheint nicht auf die Anwesenheit wechselnder Mengen von Aggregaten, die durch Proteine vernetzt sind, zurückzuführen sein, zumal die Behandlung mit proteolytischen Enzymen keinen Einfluß auf das Sedimentationsverhalten hat. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Callaghan, P. u. *N. H. Martin* (St. George's Hospital Medical School, London, Großbritannien). **Untersuchungen über Harnstoff- und Hitzedenaturierung von menschlichen Albuminen.** (Biochem. J. 79, 28P–29P, 1961.)

Die Veränderung der optischen Dispersion von Albumin in Harnstofflösungen steigender Konzentration wurde untersucht. Während Harnstoffkonzentrationen unter 2 Mol/l die optische Dispersion nicht beeinflussen, verläuft eine weitere Erhöhung der Harnstoffkonzentration mit einer Zunahme der Linksdrehung parallel. Gleichzeitig nähert sich die Dispersitätskonstante λ_c dem Wert 220 mμ. Während natives Humanalbumin zu 40

bis 50% eine α-Helixstruktur besitzt, sinkt der Gehalt in 9 mol. Harnstoff auf 5–10%. – Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß Harnstoff durch Spaltung der Wasserstoffbrücken das Albuminmolekül „abwickelt". Die Dispersionsdaten von hitzedenaturiertem Albumin unterscheiden sich von dem des Harnstoff-denaturierten Albumins.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Courts, A. (Brit. Gelatine and Glue Res. Assoc., London, Großbritannien). **Über eine durch Citrat induzierte Rückverwandlung von Gelatine in ein Kollagen-artiges System.** (Biochem. J. **79**, 28P, 1961.)

Unter dem Einfluß von Citratpuffer werden bestimmte Gelatinen in eine mehr geordnete Struktur zurückverwandelt. So nimmt die Viskosität (η_{sp}/c) bei p_H 7 um das 16fache zu. Das Phänomen ist unabhängig vom Durchschnitts-Molekulargewicht der Gelatine, aber direkt abhängig vom Festigkeitsfaktor. Während Gelatinen unter 60000 dyn. cm^{-2} nur einen beschränkten Viskositätszuwachs zeigen, ist der Grad der Rückverwandlung in Kollagenartige Systeme bei Gelatinen mit höheren Konstanten proportional der Festigkeit. – Weitere Anhaltspunkte für die Rückverwandlung von Gelatinen in Kollagen-artige Strukturen in Gelatine-Citratsystemen sind: Trübung bei Dialyse und mit NaCl, Kopräzipitation von Fasern mit Chondroitinsulfat, Faserbildung in 0,5 m-KCNS, definierte Denaturierungstemperaturen, Resistenz gegen Trypsinverdauung bei p_H 7 und 25°.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Johnson, P. u. *A. J. Rowe* (Univ. of Cambridge, England). **Die Viskositätszahl von Myosin und die Interpretation seiner hydrodynamischen Eigenschaften.** (Biochem. J. **79**, 524–530, 1961.)

Für die Viskositätszahl von Myosin erhält man in einem speziellen „schaumlosen" (nonfoaming) Kapillarviskosimeter einen Wert von $\eta = 2{,}35 \pm 0{,}03$ dl/g. Der gefundene Wert wird für die Berechnung der Dimensionen des äquivalenten Rotationsellipsoids verwendet.

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

Jones, N. C. H., B. Gardner u. *R. Helps* (St.-Mary's Hospital Medical School, London, Großbritannien). **Beobachtungen über die Bindung von Hämoglobin und Hämatin durch Serumproteine von Kaninchen, Ratte und Meerschweinchen.** (Biochem. J. **79**, 220–223, 1961.)

Die Komplexe, die sich bei der Zugabe von Hämoglobin und Hämatin zu Kaninchen-, Ratten- und Meerschweinchenserum bilden, wurden elektrophoretisch untersucht. Der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex wandert z. T. mit α_2-Beweglichkeit (Kaninchen, Ratte), z. T. wie α_3-Globulin und Albumin, eventuell auch wie β_1-Globulin (Meerschweinchen). Der Hämatin-Protein-Komplex wandert mit Albumin und α_2-Globulin (Kaninchen), mit Albumin und β_1-Globulin (Ratte) bzw. mit Albumin, α_3- und β-Globulin (Meerschweinchen).

R. Hähnel (Perth, Westaustralien)

6. Experimentelle Methodik

a) Methoden und Geräte

Abel, K. u. *J. R. Meyer-Arendt* (Phys. Dept., Utah State Univ., Logan, Utah, USA). **Mikroskopie mittels rekonstruierter Wellenfronten.** (Mikroskopie, Wien, **16**, 100–103, 1961.)

Das geschilderte Verfahren der Zweiwellenlängen-Mikroskopie führt durch wiederholte Diffraktion zu Sichtbarmachung der Molekularstruktur von Kristallen. Gezeigt wird, wie auf den ersten Schritt der Bildung des Hologramms der zweite der Rekonstruktion folgt. Zuweilen werden zusätzlich Linsensysteme zur Kompensation des Stigmatismus und anderer Aberrationen benutzt. Weiter werden die Abhängigkeit der Vergrößerung von den beiderlei Wellenlängen sowie neue Verfeinerungen, wie isomorphes Zurückstellen und die dreidimensionale Wellenfront, diskutiert.

H. H. Pfeiffer (Bremen)

Chapman, W. E. jr. (Southwestern Cotton Ginning Res. Labor., Mesilla Park, N. M., USA). **Reifegrad der Baumwollfaser und Faserfeinheit; beide getrennt, genau und rasch bestimmt.** (Text. Res. J. **31**, S. 429–433, 1961.)

Erforderlich sind außer der Bestimmung der Luftdurchlässigkeit (Micronaire-Methode) noch eine genaue Kenntnis, um welche Art Baumwolle es sich handelt.

A. Sippel (Freiburg i. Br.)

Hort, W. (Pathol. Inst. d. Univ. Göttingen). **Quantitative Untersuchungen über den Einfluß der Fixierung, Entwässerung und Einbettung auf die Herzmuskulatur.** (Z. wiss. Mikrosk. **65**, 16–21, 1961.)

Die exakten Bestimmungen betreffen die Gewichtsveränderungen von Hunde- und Meerschweinchenherzen nach zunehmender Dauer der Formalinfixierung bis zu 15 Mt. Einwirkung unter Berücksichtigung auch fortgeschrittener Autolyse und Fäulnis und die Beeinflussung des Dehnungszustandes von Herzmuskelfasern dabei und beim Einbetten, wobei auch durch Vorbehandlung entstandene Überkontraktionen berücksichtigt werden. Im allgemeinen nimmt das Gewicht formalinfixierter Muskeln nach kurzem Anstieg anfangs schneller, dann langsamer ab, besonders bei fortgeschrittener Autolyse und Fäulnis. Fasern werden mit Osmiumsäure und Formalin meist als überkontrahierte Elemente fixiert; zum Einbetten wird Gelatine dem Paraffin vorgezogen.

H. H. Pfeiffer (Bremen)

Jebsen-Marwedel, H. (Tutzing/Obb.). **Kontrastreiche Pigmente als Indikatoren für die mikroskopische Verfolgung grenzflächenenergetischer Vorgänge an Flüssigkeitspaaren (Beispiel: Lack).** (Z. wiss. Mikroskop. **65**, 12–15, 1961.)

Um die innere Anordnung des Deck- und des Grundlackes zu studieren, wird statt der Gleichfarbigkeit beider eine Pigmentierung in Schwarz/Weiß-Kontrast oder Komplementärfarben vorgenommen. Das Pigment dient als Indikator für innere Bewegungen bei der Umlagerung durch grenzflächenenergetische Schubkräfte. Für *dynaktische* Flüssigkeitspaare gilt die Voraussetzung, daß $\varrho_A < \varrho_B$ und $\sigma_A > \sigma_B$ ist (ϱ Dichte, σ Oberflächenspannung des Decklackes A und des Grundlackes B). Behandelt werden ferner Neuorientierungen durch Schlierenwirbel, ein von winzigen Quellpunkten ausgehender Aufbau wabenartiger Gefüge und die Bestimmung des Ordnungsprinzips in nicht-homogenen Flüssigkeiten in Berührung mit einer weiteren (Gas-)Phase.

H. H. Pfeiffer (Bremen)

Leusden, F. P. u. *G. Rentsch* (Hygiene-Inst. d. Univ. Kiel). **Beitrag zur Anwendung von Kunststoff-Folien in der medizinischen Mikroskopie.** (Z. wiss. Mikrosk. **65**, 1–11, 1961.)

Nach Darlegung in der Literatur beschriebener Verwendung der Kunststoffe werden einleitend die Voraussetzungen ihres Gebrauches in der Mikroskopie statt der Benutzung von Silicatgläsern (Verhalten beim Färben, gegenüber Entfärbungsmitteln, Immersionsölen, Einbettungsmedien; Vorbedingungen der Farblosigkeit, geeigneter Benetzbarkeit, UV-Durchlässigkeit, Oberflächenbeschaffenheit, Kratzfestigkeit, aber auch Wasseraufnahmevermögen, Wärmeempfindlichkeit, Ausdehnungskoeffizient u. a.) diskutiert. Die eigenen Versuche befassen sich mit den eingehenden Erfahrungen an gefärbten und ungefärbten Präparaten, ergeben aber eine solche Fülle von unterschiedlichen Verhaltensweisen, daß auf eine tabellarische Übersicht der Eigenschaften geeigneter Kunststoffe wegen der Abhängigkeit von Konzentration, Temperatur, Dauer der Einwirkung usw. verzichtet wird und ein kurzes Referat den Inhalt nicht zu erfassen vermag. *H. H. Pfeiffer* (Bremen)

Specht, W. (Anat. Inst. d. Univ. Würzburg). **Zur Spezifität der Methylgrün-Pyronin-Färbung.** (Acta Histochem., Suppl. **2**, 200–206, 1961.)

Bemerkenswert sind die zur Echtheitsprobe wichtigen Papierchromatogramme von 7 Pyroninpräparaten verschiedener Herkunft nach *Drawert*. *H. H. Pfeiffer* (Bremen)

b) Analyse

Carnegie, P. R. (Bucksburn, Aberdeen, Großbritannien; Hamilton, Neuseeland). **Eine Methode zur Abtrennung von neutralen Aminosäuren von neutralen Oligopeptiden.** (Biochem. J. **78**, 687–691, 1961.)

Monoaminomonocarbonsäuren konnten von ihren Dipeptiden durch Säulenchromatographie getrennt werden. Das Gemisch wird an einem Anionenaustauscher adsorbiert (Dowex 1). Die freien Aminosäuren werden mit Ammoniumacetatpuffer von p_H 8,65 eluiert, während die Peptide erst bei Behandlung mit Essigsäure eluiert werden. – Bei Anwesenheit von Carbonat kann es zu Störungen kommen, indem freie Aminosäuren vom Austauscher zurückgehalten werden. Wahrscheinlich ist dies auf die Bildung von Carbaminosäuren zurückzuführen. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Nelson, W. L., E. I. Ciaccio u. *G. P. Hess* (Cornell Univ., Ithaca, N. Y., USA). **Eine Schnellmethode zur quantitativen Bestimmung von proteolytischen Enzymen.** (Anal. Biochem. **2**, 39–44, 1961).

Die Darstellung unlöslicher Farbstoff-Protein-Komplexe als Substrat zur Bestimmung proteolytischer Fermente wird beschrieben. – Indigocarmin-Fibrin ist ein geeignetes Substrat zur quantitativen Bestimmung von proteolytischen Fermenten des Pepsintypus, während Kongorot-Haut-Pulver für Fermente des Trypsintypus geeignet ist. Die Farbstoffkonzentration ist der Konzentration der enzymatischen Hydrolyseprodukte direkt proportional. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Uriel, J. u. *P. Grabar* (Institut Pasteur, Paris, France). **Eine neue Technik zur direkten Bestimmung von Glycoproteinen und Polysacchariden nach Elektrophorese oder Immunelektrophorese in Agargel.** (Anal. Biochem. **2**, 80–82, 1961.)

Eine Methode zum Nachweis von Glycoproteinen und Polysacchariden nach Elektrophorese oder Immunelektrophorese in Agargel wird beschrieben. Sie beruht auf der Bildung von Aldehyd-Arylhydrazonen der mit Perjodsäure oxydierten Kohlenhydrate und anschließender Kupplung mit Diazoniumsalz zu Formazanderivaten. Die Kupferkomplexe der Formazane sind unlöslich und stark gefärbt. *R. Hähnel* (Perth, Westaustralien)

Wood, L. A., I. Madorsky u. *R. A. Paulson* (Nat. Bureau of Stand., Washington, D. C., USA). **Bestimmung der Copolymerisatzusammensetzung durch C-H-Analyse.** (J. Res. Nat. Bureau of Stand. **64A**, 1960. Vgl. Rubber Chem. Technol. **33**, 1132 bis 1141, 1960.)

Die Grundlagen und die Anwendung einer Verbrennungsmethode zur Bestimmung der Zusammensetzung von Styrol-Butadien-Copolymerisaten im vulkanisierten Zustand werden besprochen. Aus dem C/H-Verhältnis läßt sich der Styrolgehalt mit großer Genauigkeit errechnen. Vor der Verbrennung müssen niedermolekulare Anteile (Alterungsschutzmittel, Lösungsmittel usw.) durch Extraktion entfernt werden. Gebundener Mercaptanschwefel muß in einer Korrektur berücksichtigt werden. Er wird nach *Carius* bestimmt. Die Genauigkeit der Methode wurde an Beispielen geprüft. *G. Kemme* (Hannover)

7. Kunststoffe und Kautschuk

b) Elastomere

Bartenev, G. M. u. *Z. E. Styran* (Forschungsinst. der Gummiind., Moskau, UdSSR). **Einfluß der Kautschukart, der Temperatur und der Vernetzung auf die Reibungseigenschaften von Elastomeren.** (Vysokomol. Soed. **1**, 978–989, 1959. Vgl. Rubber Chem. Technol. **33**, 1166–1179, 1960.)

An Naturkautschukmischungen konnte gezeigt werden, daß die äußere Reibung bei hochelastischem Material ein molekularkinetischer Prozeß ist, bei dem unter der Wirkung der äußeren Kräfte und der thermischen Molekularbewegung eine Energiestufe zu überwinden ist. Diese Energiestufe (Aktivierungsenergie) ist von der Adhäsion des Materials abhängig und ändert sich nur geringfügig mit der Temperatur und dem Vernetzungsgrad. Bei Reibung von Naturkautschuk auf Stahl beträgt sie 18, auf Glas 21 und auf Ebonit 24 kcal/Mol. Bei polaren Kautschukarten (z. B. Nitrilkautschuk) ist sie größer als bei unpolarem Kautschuk. Bei Reibung von z. B. Nitrilkautschuk auf Stahl beträgt sie 32 kcal/Mol. – Die Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von *Schallamach* und der Theorie der Kautschukreibung. *G. Kemme* (Hannover)

Für die Schriftleitung verantwortlich: Für Originalarbeiten Prof. Dr. F. H. Müller, Marburg/Lahn und für Referate und Berichte Dr. E. Ühlein, Frankfurt/M.
Anzeigenverwaltung: Dr. Karl Niedermeyer, Frankfurt a. M.-West, Georg-Speyer-Straße 76
Verlag von Dr. Dietrich Steinkopff, Darmstadt, Holzhofallee 35
Satz und Druck: Universitätsdruckerei Mainz GmbH

Subskriptionseinladung!

Ende 1961 beginnt zu erscheinen:

Viruskrankheiten des Menschen

unter besonderer Berücksichtigung der experimentellen Forschungsergebnisse

In 2 Bänden

Von Prof. Dr. **Eugen Haagen**

Bundesanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen

Der Gesamtumfang des Werkes beträgt ca. XXXII, 2400 Seiten mit zahlreichen Abbildungen und Tabellen. Das Werk erscheint in ca. 22 Lieferungen zu je etwa 112 Druckseiten Gr.-8°. Der Bezug der ersten Lieferung verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes. Der Subskriptionspreis beträgt pro Lieferung DM 24,—. Ausführliche Prospekte stehen auf Wunsch kostenlos zur Verfügung.

Aus dem Inhalt:

Band 1

I. *Einführung*
(Allgemeines – Eigenschaften der Viren – Übertragung – Einteilung der Viruskrankheiten – Diagnostik – Immunität)

II. *Myxoviren*
(Allgemeines – Influenza-Virus – Multiforme Viren einschließl. Para-Influenza-Viren – Hämoadsorptionsviren – Versch. Myxoviren)

III. *Adenoviren*
(Pharyngokonjunktivalfieber – Keratoconjunctivitis follicularis – Keratoconjunctivitis epidemica – Zytomegalie)

IV. *Respiratorische Viren*
(Gewöhnliche Erkältung – Infektionen mit den respiratorischen Viren „JH" und „2060" – Respiratorische CC-Virus-Infektionen – Respiratorische U-Virus-Erkrankung – Primäre atypische Pneumonie)

V. *Arbor-Viren*
(Allgemeines – Arbor-Viren, Gruppe A – Arbor-Viren, Gruppe B – Arbor-Viren, Gruppe C – Bunyamwera-Gruppe – Noch nicht gruppierte Arbor-Viren)

VI. *Miyigawanellen*
(Allgemeines – Miyigawanellosen der Säugetiere – Psittakose – Ornithose – Meningopneumonie – Verschiedene weitere Pneumonieformen des Menschen – Lymphogranuloma venereum – Gutartige Lymphoretikulose – Trachom – Einschlußkonjunktivitis)

Band 2

VII. *Viren von exanthematischen Infektionen*
(Allgemeines – Röteln – Roseola infantum – Erythema infectiosum – Filatoff-Dukes-Krankheit – Akutes epidemisches Exanthem)

VIII. *Pocken-Viren*
(Allgemeines – Variola – Vaccinia – Kuhpocken)

IX. *Viren von Infektionen der Haut*
(Allgemeines – Moluscum contagiosum – Warzen – Maul- und Klauenseuche – Stomatitis vesicularis – Schweißfrieseln – Dermatitis pustulosa contagiosa – Windpocken-Zoster – Herpes simplex Anjeszkysche Krankheit)

X. *Viren von Infektionen des Nervensystems*
(Allgemeines – Durch Arthropoden übertragbare Krankheiten des ZNS, Encephalites – Andere Viruskrankheiten des Nervensystems)

XI. *Entero-Viren*
(Poliomyelitis – Coxsackie-Erkrankungen – Echo-Virus-Infektionen)

XII. *Verschiedene Virusinfektionen*
(Allgemeines – Akute infektiöse Lymphozytose – Infektiöse Mononukleose – Hepatitis epidemica – Infektiöse Pferde-Anämie – Epidemische Virus-Gastroenteritis – Epidemische Säuglings-Diarrhöe)

XIII. *Infektionen noch fraglicher Virusätiologie*

Namens- und Sachregister zum Gesamtwerk

DR. DIETRICH STEINKOPFF VERLAG · DARMSTADT

FILED IN STACKS

Mitarbeiter-Bedingungen:

Manuskripte von **Originalbeiträgen** und **wissenschaftlichen Kurzberichten** sind zu senden an:

Prof. Dr. F. H. Müller (Direktor des Universitätsinstitutes für Polymere), Marburg/Lahn, Georg-Voigt-Str. 5, oder

Prof. Dr. J. Stauff (Leiter der Abteilung für Kolloidchemie und physikalische Biochemie im Institut für physikalische Chemie der Universität Frankfurt a. M.), Bad Soden (Taunus), Postfach 13.

Berichte, Sammelreferate und **Referate** an:

Dr. E. Ühlein, Frankfurt a. M.-Niederrad 1, Postschließfach 105.

Patentberichte an:

Prof. Dr. Dr. J. Reitstötter, München 15, Pettenkoferstr. 21.

Rezensionsexemplare und **sonstige redaktionelle und geschäftliche Mitteilungen** an:

Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, Holzhofallee 35.

Der Eingang der Manuskripte wird umgehend bestätigt. Ihr Inhalt muß — außer im Fall der Berichte — unveröffentlicht sein. Die Verantwortung für den Inhalt tragen die Autoren selbst.

Eine Honorierung findet nicht statt, außer bei angeforderten Sammelreferaten und Tagungsberichten.

75 Sonderdrucke erhalten die Autoren frei, weitere Exemplare auf ausdrücklichen Wunsch gegen Berechnung. Die Manuskripte müssen leserlich und einseitig mit Schreibmaschine in deutscher, englischer oder französischer Sprache abgefaßt sein. In Fällen, bei denen zur Vermeidung langer Korrekturfristen (Übersee) die Korrektur von der Redaktion erledigt werden soll, ist zweckmäßigerweise das Manuskript im Doppel einzusenden. Eine kurze Zusammenfassung ist anzufügen. Abbildungen sind mit Legenden zu versehen und als klischierfähige Zeichnungen einzureichen, in denen die Beschriftung mit weichem Bleistift eingetragen ist. Formeln bitte deutlich schreiben, insbesondere griechische Buchstaben und Indices. Die Zahl der Abbildungen und Tabellen ist auf das unbedingt Notwendige zu beschränken. Nicht diesen Bedingungen entsprechende Manuskripte werden zurückgesandt.

Für Literaturangaben gelten die üblichen Regeln. Literaturverzeichnis ist am Schluß zusammenzufassen. Wissenschaftliche Kurzberichte (Umfang bis zu 2 Schreibmaschinenseiten) erscheinen im allgemeinen innerhalb eines Monats. **Sonderdrucke der Mitarbeiterbedingungen sind beim Verlag erhältlich.**

Die Kosten für nachträgliche Autorenkorrekturen, soweit es sich um Textergänzungen in der Korrekturfahne handelt, werden dem Autor in Rechnung gestellt.

Der Verlag behält sich das ausschließliche Recht der Vervielfältigung und Verbreitung der in dieser Zeitschrift erscheinenden Originalarbeiten während der gesetzlichen Frist vor. Mit der Übergabe des Manuskripts überträgt der Verfasser dem Verlag auch das Recht, die Herstellung von photomechanischen Vervielfältigungen seines Beitrages oder eines Teiles desselben nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958 zu genehmigen. Diese Genehmigung bezieht sich nur auf die Herstellung von photomechanischen Vervielfältigungen in gewerblichen Unternehmen zum innerbetrieblichen Gebrauch. Das Abkommen sieht vor, daß 50% des Reinerlöses zu Gunsten eines Urheberfonds verbucht werden.

Geschäftliche Bedingungen:

Die Kolloid-Zeitschrift erscheint monatlich in 1 Heft zu 96 Druckseiten, 2 Hefte bilden einen Band. Preis des Bandes DM 24,—. Jährlich erscheinen 6 Bände. Die Mitglieder der Kolloid-Gesellschaft erhalten die Kolloid-Zeitschrift zum Vorzugspreis mit 20% Ermäßigung. Die Zeitschrift wird automatisch zur Fortsetzung weitergeliefert, sofern nicht vier Wochen vor Schluß des Berechnungszeitraumes eine Abbestellung vorliegt. Die Zeitschrift ist durch alle Buchhandlungen des In- und Auslandes sowie durch den Verlag zu beziehen. Für jedes Photokopierblatt eines Beitrages oder Beitragsteiles aus dieser Zeitschrift ist eine Wertmarke von DM —,30 zu verwenden. Diese Wertmarken sind bei der Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt a. M., erhältlich. — Alle geschäftlichen Mitteilungen werden an den **Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, Holzhofallee 35,** Telefon 70966, erbeten. Schriftverkehr betr. Anzeigen ist direkt mit der **Anzeigenverwaltung Dr. Karl Niedermeyer, Frankfurt a. M.-West,** Georg-Speyer-Straße 76, Fernruf 775036 (Postscheckkonto Frankfurt a. M. 19383) zu führen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zahlungen für den Dr. Dietrich Steinkopff Verlag, Darmstadt, können auf nachstehende Konten geleistet werden:
Postscheckkonto Frankfurt/M. Nr. 95697, Deutsche Bank Darmstadt Nr. 260117

Abkürzung des Titels dieser Zeitschrift für Literaturnachweise: Kolloid-Z.

Printed in Germany